

SÉRGIO BOTELHO GUIMARÃES

**ESTUDO EXPERIMENTAL DAS ALTERAÇÕES AGUDAS NA
GLICEMIA E CONCENTRAÇÕES TESTICULARES DE ATP E
GLICOSE INDUZIDAS POR TORÇÃO UNILATERAL, *IN VIVO***

Fortaleza - Ce

2002

SÉRGIO BOTELHO GUIMARÃES

Estudo experimental das alterações agudas na glicemia e concentrações testiculares de ATP e glicose induzidas por torção unilateral, *in vivo*

Dissertação apresentada em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Mestre, Programa de Pós-graduação *stricto sensu* em Cirurgia do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos

Fortaleza - Ce

2002

FICHA CATALOGRÁFICA

G98e Guimarães, Sérgio Botelho

Estudo experimental das alterações agudas na glicemia e concentrações testiculares de ATP e glicose induzidas por torção unilateral, *in vivo*, / Sérgio Botelho Guimarães. - Fortaleza, 2002.

76 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará.

Faculdade de Medicina. Departamento de Cirurgia.

1. Metabolismo energético. 2. Isquemia. 3. Traumatismo por reperfusão. I. Vasconcelos, Paulo Roberto Leitão de (Orient.) II.

Título

CDD: 612.39

Estudo experimental das alterações agudas na glicemia e concentrações testiculares de ATP e glicose induzidas por torção unilateral, *in vivo*.

Esta dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do Título de Mestre em Cirurgia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

Sérgio Botelho Guimarães

Dissertação aprovada em : 04 / 04 / 2002

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos
Orientador da Dissertação

Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues
Deptº. de Cirurgia - UFC

Prof. Dr. Luiz Alberto de Mendonça Lima
Deptº. de Pediatria – UnB

**Ao Grande Médico, meu criador e meu Deus,
que de modo maravilhoso me formou.**

AGRADECIMENTOS

Ao orientador deste trabalho, Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos, pelos ensinamentos e disponibilidade para as discussões, independentemente de horários, quer na Universidade, quer na sua própria residência, sacrificando suas horas de lazer no cumprimento do compromisso assumido, para assegurar a conclusão do presente trabalho dentro dos prazos legalmente estabelecidos.

Ao Prof. Dr. Francisco Sérgio Pinheiro Regadas, pelos ensinamentos e revisão do texto introdutório.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, que utilizaram suas horas de lazer para ministrar as disciplinas exigidas nos pré-requisitos do mestrado *stricto sensu*, nos propiciando a oportunidade de executar nossas atividades didáticas de ensino na graduação do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, sem solução de continuidade.

Aos Colegas do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pelo estímulo e companheirismo.

À médica veterinária Dra. Maria Artemísia Portela de Almeida Cardoso, chefe do biotério de pequenos animais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela ajuda na obtenção e identificação dos animais machos para a realização do estudo.

Aos estudantes Irismar de Azevedo Andrade, José Walter Feitosa Gomes e Marjory Sabino pela ajuda inestimável na fase experimental deste estudo, no manuseio e cuidado dos animais e na preparação do material coletado para as análises enzimáticas.

Ao Sr. Francisco Evanir Gonçalves de Lima funcionário da Unidade de Farmacologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela ajuda técnica na preparação e execução dos ensaios metabólicos.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos meus pais, Enoch (*in memoriam*) e Margarida, pela dádiva da vida e pela formação moral, cultural e religiosa.

A Tereza Cristina, fiel e devotada companheira de todas as horas.

Aos meus filhos e netos, objetivo maior de minha existência, pela paciência com minhas freqüentes ausências e pela alegria de suas presenças.

“O homem verdadeiramente prudente não diz tudo quanto pensa, mas pensa tudo quanto diz”.

Aristóteles (384 – 322 a.C.)

“ Porque nada podemos contra a verdade, senão em favor da própria verdade “.

2. Coríntios 13:8

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Histórico	2
1.2. Incidência	3
1.2. Tipos anatômicos de torção testicular	4
1.4 Etiologia	5
1.5 Fisiopatogenia	6
1.6. Diagnóstico	7
1.6.1. Quadro clínico	7
1.6.2. Exames complementares	8
1.7. Conduta terapêutica	9
1.8. Modelos experimentais de torção testicular	12
1.9. Isquemia testicular experimental em animais	12
2. OBJETIVO	15
3. MÉTODO	16
3.1. A amostra	16
3.2. O estudo	18
3.2.1. Pré-operatório	18

3.2.2. Anestesia	18
3.2.3. Técnica operatória	19
3.2.4. Preparação dos espécimes (sangue e tecido testicular)	22
3.2.5. Determinação dos metabólitos	23
3.2.5.1. Determinação do ATP e da glicose-6-fosfato no sangue e nos testículos	23
3.2.5.2. Determinação da D-glicose	24
3.2.5.3. Cálculos dos metabólitos no sangue e no testículo	25
3.3. Análise estatística	27
4. RESULTADOS	29
4.1. Concentrações de glicose no sangue e nos testículos	29
4.2. Concentrações de ATP nos testículos	35
5. DISCUSSÃO	40
6. CONCLUSÕES	55
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
8. ANEXO 1	74
9. ANEXO 2	76

Lista de Tabelas

TABELA 1	Concentração de glicose no testículo direito – Isquemia <i>versus</i> Operação Simulada	29
TABELA 2	Concentração de glicose nos testículos direito e esquerdo (Grupo 2 – Isquemia)	31
TABELA 3	Concentração de glicose nos testículos direito e esquerdo - Grupo 1 (Operação Simulada).....	32
TABELA 4	Concentração de glicose no testículo esquerdo nos diferentes tempos de reperfusão.....	33
TABELA 5	Concentração sanguínea de glicose	34
TABELA 6	Concentração de ATP no testículo direito – Isquemia <i>versus</i> Operação Simulada	35
TABELA 7	Concentração de ATP nos testículos direito e esquerdo - Grupo 2 (Isquemia).....	36
TABELA 8	Concentração de ATP nos testículos direito e esquerdo - Grupo 1 (Operação Simulada).....	38
TABELA 9	Concentração de ATP no testículo esquerdo nos diferentes tempos de reperfusão.....	39

Lista de Figuras

		página
FIGURA 1	Tipos de torção testicular (A, B, C)	4
FIGURA 2	Tipo de torção testicular (D)	4
FIGURA 3	Torção testicular experimental: modelo atraumático ...	17
FIGURA 4	Estruturas espermáticas do rato Wistar	19
FIGURA 5	Testículo direito torcido	20
FIGURA 6	Testículo após a destorção	21
FIGURA 7	Testículo direito 30 minutos após a destorção	21
FIGURA 8	Concentração de glicose no testículo direito	30
FIGURA 9	Concentração de glicose no testículo (Grupo 2 – Isquemia)	31
FIGURA 10	Concentração de glicose no testículo (Grupo 1 – Operação Simulada)	32
FIGURA 11	Concentração de glicose no testículo esquerdo	33
FIGURA 12	Glicemia	34
FIGURA 13	Concentração de ATP no testículo direito	36
FIGURA 14	Concentração de ATP nos testículos direito e esquerdo (Grupo 2 – Isquemia)	37
FIGURA 15	Concentração de ATP nos testículos direito e esquerdo (Grupo 1 – Operação Simulada)	38
FIGURA 16	Concentração de ATP no testículo esquerdo	39

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SINAIS CONVENCIONAIS

®	Marca registrada
ADP	Difosfato de adenosina
ATP	Trifosfato de adenosina
D	Direito
Dept. ^o	Departamento
Dr.	Doutor
Dra.	Doutora
ed.	Edição
EPM	Erro Padrão da Média
f	Folha (s)
G	Gramma
G ₆ PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
H ⁺	Íon Hidrogênio
il.	Ilustrado (a)
K	Constante de equilíbrio
M	Molar
ml	Mililitro
MM	Milimolar
n. ^o	Número
NAD ⁺	Forma oxidada de nicotinamida adenina dinucleotídio
NADH	Forma reduzida de nicotinamida adenina dinucleotídio
NADP ⁺	Forma oxidada de nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato
NADPH	Forma reduzida de nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato
p.	Página
pH	Logaritmo decimal do inverso da atividade dos íons
Prof.	Professor
TCE	Torção do cordão espermático
TT	Torção testicular
UFC	Universidade Federal do Ceará
μmol	Micromol

RESUMO

Estudo experimental das alterações agudas na glicemia e concentrações testiculares de ATP e glicose induzidas por torção unilateral, *in vivo*. SÉRGIO BOTELHO GUIMARÃES. Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará (Mestrado). Abril de 2002. Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

A torção do cordão espermático é a emergência geniturinária mais comum na idade pediátrica. Foram estudadas as alterações metabólicas agudas nas concentrações testiculares de ATP e glicose após uma hora de isquemia induzida por torção do cordão espermático. Sessenta ratos Wistar machos, pré-púberes, foram distribuídos em 2 grupos de 30 animais cada, e cada grupo em 5 subgrupos de 6 ratos. Os ratos do grupo 1 foram submetidos à torção seguida por distorção imediata (operação simulada) do testículo direito. Os animais do grupo 2 foram submetidos à torção do testículo direito (720°), durante uma hora. Os animais dos diferentes subgrupos foram sacrificados 30 minutos, 1 hora, 6 horas e 24 horas após a distorção ou realização da cirurgia simulada para a remoção dos testículos e coleta de amostra de sangue arterial. As alterações das concentrações de glicose e ATP foram determinadas por métodos enzimáticos. Ocorreu queda significativa ($p < 0,05$) da concentração de glicose e ATP no tempo 0 h, nos testículos isquemiados. Não ocorreram alterações na glicemia nem nas concentrações de glicose e ATP nos testículos contralaterais. Os animais submetidos à operação simulada apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) da concentração de glicose no testículo ipsilateral quando comparada à concentração de glicose no testículo esquerdo dos mesmos animais nos tempos 0 h e 24h. A diminuição do fluxo sanguíneo em decorrência da torção explica a redução das concentrações de ATP e glicose nos testículos isquemiados. A ausência de alterações nas concentrações de ATP e glicose nos testículos contralaterais (esquerdos) poderia ser uma decorrência do reduzido tempo de isquemia imposto ao testículo ipsilateral (direito). Conclui-se que a torção testicular unilateral de 720°, por uma hora, induz uma redução significativa ($p < 0,05$) das concentrações testiculares de ATP e de glicose no testículo isquemiado sem alterações correspondentes da glicemia. A simples manipulação do testículo direito (cirurgia simulada) induz um aumento da concentração de glicose testicular.

Descritores: Torção do cordão espermático, Testículo [metabolismo], Isquemia, Ratos

ABSTRACT

***In vivo* acute changes in ATP and glucose concentrations in the rat testicles following unilateral torsion. Experimental study.** SÉRGIO BOTELHO GUIMARÃES. Post-graduation Course in Surgery (*Stricto Sensu*) of the Surgical Department, Faculty of Medicine, Federal University of Ceará (Master's Degree in Surgery). 2002, April. Professor: Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

Spermatic cord torsion is one of the more common surgical urological emergencies in childhood. An experimental study has been conducted to investigate acute changes in testicular concentrations of ATP and glucose following one-hour unilateral 720° testicular torsion. Sixty prepubertal male Wistar rats were distributed into two groups: Group 2 (Ischemia) and Group 1 (Sham operated). Each group (n=30) was divided into 5 subgroups (n=6). All animals were subjected to right testicular torsion of 720°. The testicular torsion of animals from Group 1 was immediately corrected. Group 2 animals had their testicular torsion lasting one hour followed by detorsion. Testicles were collected and arterial blood samples taken from abdominal aorta of each animal subgroup at the end of ischemic period or one hour after sham operation and 0.5, 1, 6 and 24 hours later. ATP and glucose concentrations were significantly decreased ($p < 0.05$) in ischemia group as compared to sham group at the end of ischemic period. There was no difference in glycemia when comparing ischemic versus sham-operated rats. Glucose concentrations were significantly increase ($p < 0.05$) in ipsilateral testis of sham-operated rats. No significant change in ATP and glucose concentrations were found in the left testicle in comparison to the ones measured in the right testicle of the same animal. The decrease in ATP and glucose concentrations may be explained by the reduction in blood flow to the torsted testis imposed by torsion. The absence of significant contralateral alterations in the concentrations of ATP and glucose could be related to the limited time of isquemia imposed to the right testis. It is concluded that unilateral one-hour testicular torsion causes a decrease in ipsilateral testicular perfusion resulting in decreased testicular concentrations of glucose and ATP in the ipsilateral (right) testicles and no alterations in the concentrations of glucose and ATP in the contralateral testicles. Simple testicle manipulation (Sham Operation) causes a significant increase in glucose concentrations in the ipsilateral (right) testis.

Subject Headings: Spermatic Cord Torsion, Testis [metabolism], Ischemia, Rats

1. INTRODUÇÃO

A dor escrotal intensa e de aparecimento súbito, em crianças e adolescentes, tem como causa mais freqüente a torção do apêndice testicular ou Hidátide de Morgagni; a torção unilateral do cordão espermático ocupa o segundo lugar na gênese da dor escrotal aguda (ANDERSON e WILLIAMSON, 1988; HASTIE e CHARLTON, 1990; PRIETO et al., 1996; DUBOIS e DODAT, 1998; VAN GLABEKE et al., 1998; SOUTO et al., 1999).

O testículo humano é uma estrutura de forma elipsóide suspensa por um eixo vertical ao longo do cordão espermático (CURRIE et al., 1989). Sua rotação axial determina, de início, uma oclusão venosa, permanecendo pérvio o sistema arterial; logo se estabelece o edema que acentua o efeito estrangulador da torção e comprime os vasos, levando à isquemia e ao infarto por obstrução do fluxo sangüíneo arterial, resultando em gangrena do testículo, caso não sejam instituídas, em tempo hábil, as medidas terapêuticas apropriadas (SKOGLUND et al., 1970a).

O quadro clínico descrito é denominado torção testicular (TT) ou torção do cordão espermático (TCE), de modo mais apropriado, aflige os indivíduos do sexo masculino no período de gestação intra-uterina, e ao longo da sua existência, afetando profundamente a função reprodutora e se constitui a emergência geniturinária mais comum, na idade pediátrica (STEINBERGER e TJIOE, 1969; SPARKS, 1972; ORTIZ et al., 1985; NISTAL et al., 1992; OROZCO SANCHEZ e SAMANO MARTINEZ, 1994; DOMINGUEZ et al., 1994; GIANNAKOPOULOS et al., 1955; TUCCI JUNIOR e BEDUSCHI (1996); GIANNAKOPOULOS et al., 1997; PRILLAMAN e TURNER, 1997; AL SALEM, 1999; GAUSCHE, 1996).

A cirurgia precoce pode interromper esse ciclo vicioso, impedindo ainda seus efeitos deletérios sobre o testículo contralateral (BARTSCH et al., 1980; PASSIA et al., 1980; COSENTINO et al., 1984; HADZISELIMOVIC et al., 1986; JHUNJHUNWALA et al., 1986; MAZURKIEWICZ, 1986; JANETSCHEK et al., 1988; SAKAI et al., 1992; KAMADA et al., 1993; ORTIZ e ARAUJO, 1998).

Estudos atuais mostram que a diminuição da espermatogênese observada no testículo contralateral está relacionada com a lesão decorrente da oxigenação dos

tecidos depois de determinado período de isquemia, conhecida como lesão por reperfusão (AKGÜR et al., 1993).

A hipóxia resultante da diminuição do fluxo sangüíneo pela torção do cordão espermático produz níveis elevados de ácido láctico, hipoxantina e peroxidases lipídicas nos tecidos isquêmicos, seguida da produção de grande quantidade de radicais livres de oxigênio, que reagem com os lipídios das células e das mitocôndrias, alterando a permeabilidade de suas membranas, culminando com a morte celular (SAUGSTAD, 1988; REILLY et al., 1991; KAGAN *apud* AKGÜR et al., 1993).

As lesões encontradas no testículo isquemiado representam uma somatória dos efeitos da isquemia decorrente da diminuição do fluxo sangüíneo acrescida das lesões causadas pela reperfusão do testículo (AKGÜR et al., 1993).

1.1. Histórico

Coube a Delasiauve em 1840, a primazia da descrição do infarto testicular decorrente da isquemia induzida pela torção do cordão espermático, em um adolescente de 15 anos, com suspeita clínica de hérnia inguinal estrangulada (SNYDER JR. et al., 1962). Durante a execução do ato cirúrgico foi verificado que o suprimento sangüíneo do testículo estava comprometido em decorrência da torção do cordão espermático.

Mais de 50 anos depois, em 1893, realizou-se, pela primeira vez, a redução manual de um testículo torcido, como medida terapêutica para salvar o órgão (SPARKS, 1971).

Taylor, citado por Das e Singer (1990), relatou o primeiro caso de torção testicular intra-uterina e usou, pela primeira vez, em 1897, o termo torção testicular. Quatro anos depois, em 1901, Scudder, citado por Williamson (1976) apresentou uma revisão de 32 casos publicados até aquela época.

A torção do apêndice testicular (hidátide de Morgagni) foi citada por Ombredanne em 1913 mas coube a Colt, em 1922, a primeira publicação sobre o assunto (NOSKE et al., 1998).

Abeshouse revisou a literatura e publicou, em 1936, uma extensa relação (350 pacientes) de casos de torção do cordão espermático. (SNYDER JR. et al., (1962)

Até o início do ano de 1964 o número de casos publicados aumentou para 500 (SPARKS, 1971). Seis anos depois, no início da década de 70, esse número se elevou para 718 casos, distribuídos em 102 publicações científicas (SKOGLUND et al., 1970b).

1.2. Incidência

A torção do cordão espermático ou torção testicular afeta os indivíduos do sexo masculino no período de gestação intra-uterina e ao longo de sua existência, e se constitui a emergência geniturinária mais comum na idade pediátrica (GAUSCHE, 1996).

A distribuição da idade de ocorrência da afecção origina uma curva bifásica com picos de incidência no período pré-natal e na adolescência, segundo a maioria dos autores.

Estudo da incidência da torção do cordão espermático na Inglaterra ao longo de 25 anos (1960 a 1984: 670 casos, idade média 16,7 anos) comparando o número de casos com a população susceptível, demonstrou uma incidência de 27:10.000 indivíduos do sexo masculino (ANDERSON e WILLIAMSON, 1988) .

No Chile (Santiago), Prieto et al., (1996) apresentaram um estudo de 147 pacientes com a síndrome escrotal aguda e verificaram a ocorrência da torção do cordão espermático em 44 pacientes; a idade dos pacientes variou de 2 dias a 15 anos.

O estudo de uma série de 91 crianças operadas para correção de TCE em um período de 10 anos (1986-1996) na França (Paris) demonstrou a existência de dois picos de incidência da afecção: no período neonatal e na adolescência (VAN GLABEKE et al., 1998) .

No Brasil, o estudo da incidência da TCE em hospitais universitários do Rio Grande do Sul identificou 36 casos num período de 5 anos (1992-1997). A maioria (53,85%) era constituída por adolescentes entre os 9 e 18 anos de idade (SOUTO et al., 1999) .

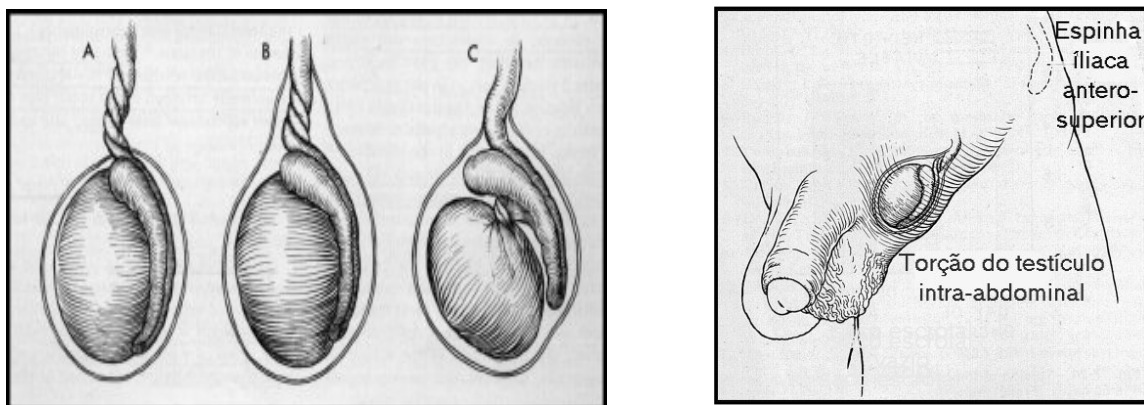
No Peru, Zeballos Evangelista et al., (1987) encontraram um único pico de incidência da torção do cordão espermático entre 20 e 49 anos, num período de 4 anos (1982 – 1986).

Há uma prevalência da torção do cordão espermático no lado esquerdo, porque aqui o cordão é mais longo, o que aumenta a sua mobilidade e o torna mais vulnerável segundo vários pesquisadores (SKOGLUND et al., 1970a; VIEIRA et al., 1982; PAN, 1998). Entretanto, um trabalho recente encontrou resultados diametralmente opostos, demonstrando uma maior incidência da torção no lado direito (WATKIN et al., 1996).

1.3. Tipos anatômicos de torção testicular

Existem 4 tipos de torção testicular (SNYDER JR. et al., 1962; GABRIEL e PAN, 1983):

- A. Torção extravaginal ou supravaginal
- B. Torção intravaginal
- C. Torção testicular propriamente dita
- D. Torção testicular intra-abdominal



Figuras 1-2 – Tipos de torção testicular (segundo Snyder Jr. et al., 1962)

Tipos A, B e C (Figura 1) - Tipo D (Figura 2)

O tipo A resulta da torção do cordão espermático acima da túnica vaginal, com maior incidência no período neonatal, devido à falta de fixação da túnica vaginal à

parede do saco escrotal (a fixação se consolida após o nascimento, num período de 30 dias).

O tipo B é o mais freqüente é normalmente bilateral, pode ser decorrente de um defeito de inserção da túnica vaginal, conferindo ao testículo um aspecto semelhante a um badalo de sino (*bell clapper*).

O tipo C é muito raro e as alterações isquêmicas afetam apenas a gônada; o epidídimo é preservado.

O tipo D ocorre quando o testículo ocupa uma posição intra-abdominal; os sintomas e sinais fogem do padrão habitual, simulando um quadro clínico sugestivo de apendicite aguda (Guice *apud* SNYDER JR et al., 1962).

1.4. Etiologia

A torção do cordão espermático tem como causa básica, independente da idade do paciente, a ação do músculo cremastérico que, por sua posição anatômica, determina uma movimentação espiral do testículo com conseqüente rotação axial para fora (SPARKS, 1972).

O fenômeno que propicia a rotação do cordão espermático (torção) é a contração segmentar do músculo cremáster. (TARTER et al., 1988),

Longo (1978) sugeriu que os níveis de testosterona aumentados e a elevação e rotação do testículo durante o ciclo de resposta sexual noturna iniciam a torção. Freqüentemente o paciente acorda com a dor no testículo.

O trauma pode também ser a causa da torção de um testículo normal (SKOGLUND et al., 1970b; WILLIAMSON, 1976).

A TT extravaginal afeta, normalmente, o recém-nascido, em virtude da extrema mobilidade do testículo e da inexistência de fixação à parede lateral da bolsa escrotal. Assim, no recém-nascido, o testículo pode ser removido da bolsa escrotal sem dificuldade (SNYDER JR. et al., 1962).

O tipo intravaginal atinge, freqüentemente, as crianças maiores e o adulto porque nesses indivíduos há fixação do testículo à base do saco escrotal através de uma estrutura fibrosa denominada gubernáculo, dificultando assim a ocorrência de torção do cordão espermático (SNYDER JR. et al., 1962).

Embora o gubernáculo esteja presente na maioria dos recém-nascidos, o seu longo comprimento, ao manter o testículo fixo de um lado, contrabalançando-se às estruturas espermáticas, permite, com maior facilidade, a sua rotação em torno do eixo longitudinal, justificando a maior freqüência da torção do cordão espermático nos indivíduos de tenra idade (SNYDER JR. et al., 1962).

Entretanto, a TT intravaginal não é apanágio dos adultos e adolescentes, podendo ocorrer no recém-nascido (TUCCI JUNIOR e BEDUSCHI, 1996). O risco do indivíduo sadio desenvolver um quadro agudo de torção do cordão espermático é de 1:160 até os 15 anos de idade (WILLIAMSON, 1976).

1.5. Fisiopatogenia

A torção do testículo determina, de início, uma oclusão venosa, permanecendo pérvio a trama vascular arterial; logo se estabelece o edema que acentua o efeito estrangulador da torção. O aumento da pressão hidrostática decorrente da oclusão venosa induz à ruptura vascular e a hemorragia intersticial (BLANK et al., 1993), aumentando o efeito compressor sobre os vasos, levando à isquemia generalizada e ao infarto testicular por obstrução do fluxo sanguíneo arterial (SKOGLUND et al., 1970b; COSENTINO et al., 1985).

Quando um tecido vivo é privado do seu suprimento de oxigênio, há uma inibição do metabolismo oxidativo da glicose, produzindo uma redução da concentração tissular de ATP (trifosfato de adenosina) e de fosfato de creatina. Com a diminuição da concentração celular de ATP, o mecanismo de glicólise anaeróbica é ativado, na tentativa de manutenção da integridade das funções celulares, consumindo, rapidamente, as reservas de glicogênio celular e ensejando uma elevação dos níveis de ácido láctico com conseqüente redução do pH intracelular (OLSON, 1997).

Alguns tecidos, entre os quais a medula renal e o testículo, dependem da glicólise para a produção de ATP visto que suas células têm um número muito reduzido de mitocôndrias (HARRIS, 1997).

O retorno da oxigenação (reperfusão), na ausência de lesões celulares, diretamente dependentes do tempo de isquemia, poderá propiciar a normalização do metabolismo oxidativo da glicose.

A isquemia pode determinar graves alterações na função reprodutora. Pesquisadores demonstraram, em 1950, que as primeiras alterações histopatológicas são detectáveis após 90 minutos de isquemia, afirmando que a suscetibilidade celular à redução do fluxo sanguíneo é variável e depende do seu grau de especialização e da sua atividade, com as células em repouso sendo menos refratárias aos efeitos maléficos da isquemia (HARRISON e OETTLÉ *apud* COSENTINO et al., 1986). As lesões histológicas podem ocorrer mesmo quando a isquemia testicular é de curta duração (RYAN et al., 1988).

As lesões decorrentes da torção testicular unilateral não se limitam ao testículo torcido. Estudos atuais mostram que a diminuição da espermatogênese do testículo contralateral está relacionada com a lesão decorrente da oxigenação dos tecidos depois de determinado período de isquemia, conhecida como lesão por reperfusão (BLANK et al., 1993).

A hipóxia resultante da diminuição do fluxo sanguíneo pela torção do cordão espermático produz níveis elevados de ácido láctico, hipoxantina e peroxidases lipídicas nos tecidos isquêmicos, seguida da produção de grande quantidade de radicais livres de oxigênio, tal como ocorre em outros órgãos (KAGAN, 1988; REILLY et al., 1992; MAXWELL e LIP, 1997). O mecanismo está relacionado com o restabelecimento da oferta de oxigênio que propicia uma conversão da hipoxantina, produto da degradação do ATP em ácido úrico na presença da enzima xantina. Durante essa conversão há uma produção excessiva de radicais livres de oxigênio que reagem como os lipídios das células e das mitocôndrias, alterando a integridade celular por modificação da permeabilidade das membranas. Essa cadeia de eventos é conhecida como lesão por reperfusão (FEHER et al., *apud* AKGÜR et al., 1993; REILLY et al., 1992; Kagan, *apud* AKGÜR et al., 1993).

1.6. Diagnóstico

1.6.1. Quadro clínico

O quadro clínico clássico da TCE é caracterizado pelo aparecimento súbito de dor escrotal, freqüentemente acordando paciente no meio da noite; aumento de volume e edema da bolsa escrotal também estão presentes (MASTROTI, 1997).

Várias afecções exibem sintomas semelhantes, entre as quais se destacam a torção do apêndice testicular, a hérnia inguinal encarcerada e a orquiepididimite. Sintomas gerais, tais como náuseas, vômitos e dor abdominal bem como hiperemia local podem estar presentes (GAUSCHE, 1996).

Não é raro o paciente ser acordado no meio da noite exibindo intensa dor abdominal (PAN, 1998).

A dor pode ser agravada pela elevação do testículo; essa manobra, conhecida como Sinal de Prehn, é utilizada na avaliação da dor escrotal aguda e permite diferenciar clinicamente a TCE da epididimite aguda que exhibe sintomatologia semelhante, já que nessa última a sintomatologia dolorosa é parcialmente aliviada pela elevação do testículo (MASTROTI, 1997).

A palpação de um nódulo doloroso, localizado no pólo superior do testículo é altamente sugestiva de torção do apêndice testicular (HASTIE e CHARLTON, 1990). A ausência do reflexo cremastérico, observada na torção testicular, é um achado importante no diagnóstico diferencial (RABINOWITZ, 1984; PAN, 1998).

Rabinowitz (1984) estudou 245 crianças com dor escrotal aguda e concluiu que a ausência do reflexo cremastérico é altamente sugestiva de torção testicular. Pan (1998), no seu trabalho sobre torção testicular, demonstrou a ausência do reflexo cremastérico em 100% dos casos estudados.

Tucci Junior et al., (1996) consideram o diagnóstico diferencial entre torção do cordão espermático e as demais afecções capazes de produzir sinais e sintomas semelhantes, um desafio clínico, principalmente em crianças e adolescentes.

Beasley (1999) chama a atenção para o diagnóstico precoce da dor escrotal aguda, na criança, argumentando que como nem sempre é possível distinguir entre torção do apêndice testicular e torção do cordão espermático, a exploração cirúrgica deve ser compulsória quando a diferenciação não puder ser estabelecida com segurança.

1.6.2. Exames complementares

A ecografia simples ou associada ao Doppler colorido, a tomografia computadorizada e os exames radiológicos com contraste (radioisótopos) podem ser

utilizados na avaliação diagnóstica, mas são recursos diagnósticos complementares, nem sempre facilmente disponíveis, aos dados obtidos na história clínica, exame físico e o exame sumário de urina, que constituem a pedra angular para o diagnóstico da torção do cordão espermático (STOLLER et al., 1985).

Nas crianças muito jovens, o diminuto tamanho dos testículos é um fator limitador da precisão diagnóstica do ultra-som, podendo produzir resultados insatisfatórios (STOLLER et al., 1985).

A cintilografia escrotal com o tecnécio 99 não é recomendada para a avaliação de distúrbios testiculares em recém-nascidos e crianças mas é, sem dúvida, um exame complementar confiável em indivíduos pós-pubescentes (FISCHMAN et al., 1990).

Costabile et al., (1993) realizaram estudos da perfusão testicular após torção experimental no rato, utilizando equipamentos de ressonância magnética e concluíram que o método é confiável no diagnóstico diferencial da torção testicular. O alto custo e a freqüente indisponibilidade do exame impedem seu uso rotineiro na avaliação da torção do cordão espermático humano.

A avaliação do fluxo sanguíneo arterial do cordão espermático e testículos pela ultra-sonografia associada ao Doppler colorido é um método eficaz na diferenciação entre processo inflamatório e torção testicular, uma vez que somente há diminuição do suprimento arterial nessa última condição (SAITO et al., 1996; BAKER et al., 2000). Baud et al., (1998) demonstraram ser possível detectar a rotação espiral do cordão espermático nos casos dúbios de torção do cordão espermático em adolescentes ou adultos usando a ultra-sonografia associada ao Doppler colorido, mas não obtiveram êxito em crianças muito jovens, onde as imagens não eram conclusivas.

1.7. Conduta terapêutica

No passado, os resultados do tratamento cirúrgico da TT aguda eram desanimadores. Na tentativa de evitar-se a orquiectomia, recomendava-se que a preservação do testículo no recém-nascido deveria ser a regra, exceto quando houvesse gangrena óbvia (Longino e Martin *apud* SNYDER JR. et al, 1962; WAGGETT, 1977), para assegurar-se, pelo menos, a função endócrina do testículo,

vez que as células intersticiais de Leydig eram mais resistentes aos efeitos da isquemia que as células da linhagem espermatogênica (células de Sertoli) produtoras de espermatozóides, conforme demonstrado em estudos experimentais em cães (SMITH, 1955).

O consenso, diante desses resultados, era que mesmo havendo dúvidas quanto à viabilidade do testículo torcido, a preservação do órgão estava indicada, exceto quando este era francamente necrótico, procedendo-se, concomitantemente, à fixação de ambos os testículos para prevenir a recorrência de torção (KRARUP, 1978; GESINO, 1995; NESA et al., 1998). Há no entanto, uma corrente contrária à fixação profilática do testículo contralateral afirmando tratar-se de um procedimento desnecessário (MIZRAHI e SHTAMLER, 1992).

Nos últimos 22 anos muitos pesquisadores têm contestado essa conduta conservadora (BARTSCH, 1980; BARADA, 1989). Sabe-se que a maioria dos testículos distorcidos e fixados após 24 horas de isquemia evoluem para a atrofia (BURTON, 1972; KRARUP, 1978).

Krarup (1978) relatou 2 casos tardios de torção do cordão espermático em pacientes que não foram submetidos à fixação do testículo contralateral por ocasião da primeira cirurgia.

Gesino (1995) analisou 41 casos de TT pós-fixação do testículo publicados entre 1970 e 1993, e sugeriu que a fixação deve ser muito meticulosa para prevenir a ocorrência da torção.

Nesa et al., (1998) relataram um caso de torção do cordão espermático pós-fixação para criptorquidia e recomendam a eversão da túnica vaginal para prevenir a ocorrência da torção.

Mizrahi e Shtamler (1992) são contrários a orquidopexia contralateral na torção aguda do cordão espermático. Após estudarem 31 pacientes previamente submetidos à destorção e fixação do testículo ipsilateral sem que o testículo contralateral fosse ancorado em nenhum caso, sem ocorrência de recidivas ou torção contralateral durante 15 anos, período objeto do estudo.

A idade do paciente vítima da TT parece ter influência no resultado do tratamento. No homem, a primeira evidência histológica de puberdade é a proliferação de espermatogônias, seguida de alterações da voz e crescimento rápido (MASTROTI, 1998).

Araújo (1998) demonstrou a ausência de luz nos túbulos seminíferos dos testículos de crianças até 6 anos de idade, o que justificaria a preservação do testículo viável nas crianças pré-pubescentes, sem risco para a futura espermatogênese.

Muitos testículos semi-necróticos foram preservados porque se desconheciam os efeitos danosos de sua persistência. Sabe-se hoje que as alterações da espermatogênese, freqüentemente encontradas após a torção unilateral do cordão espermático, não se limitam ao testículo diretamente afetado. (BARTSCH et al., 1980; PASSIA et al., 1980; COSENTINO et al., 1984; HADZISELIMOVIC et al., 1986; JHUNJHUNWALA et al., 1986; MAZURKIEWICZ, 1986; JANETSCHEK et al., 1988; ORTIZ E ARAUJO, 1998). Essa assertiva não tem apoio unânime.

Resultados opostos, mostrando ausência de alterações histológicas no testículo contralateral também têm sido publicados nos últimos 20 anos (LUDWIG et al., 1980; TURNER, 1985; PURI et al., 1985; ORTOLANO E NASRALLAH, 1986; TURNER, 1987; TARHAN et al., 1996).

Anderson et al., (1992) examinaram o sêmen de 16 pacientes pós-pubescentes submetidos à destorção testicular e orquidopexia bilateral (9 casos) ou orquiectomia ipsilateral e orquidopexia contralateral (7 casos) e concluíram que as alterações do sêmen são bilaterais, independente do tipo prévio de tratamento da torção testicular aguda.

Como nem sempre é possível estabelecer-se um diagnóstico precoce da dor escrotal aguda, na criança, mesmo com a utilização dos modernos e sofisticados métodos de investigação diagnóstica, a exploração cirúrgica deve ser compulsória, quando esse diagnóstico não puder ser estabelecido com segurança, dentro de 2 a 6 horas (PETRACK e HAFEEZ, 1992; BEASLEY, 1999).

Martinez Sanz et al., (1989) analisaram 56 casos de torção do cordão espermático em pacientes maiores de 14 anos. Os pacientes atendidos após 12 horas do início da torção foram submetidos a orquiectomia vez que seus testículos não puderam ser preservados, reforçando a necessidade do diagnóstico precoce.

Quando a isquemia é de curta duração (tratamento precoce), as alterações são mínimas; entretanto, nas intervenções tardias, mesmo a remoção do testículo não impede a deterioração da qualidade do sêmen (ANDERSON et al., 1992).

1.8. Modelos experimentais de torção testicular

Diversos modelos experimentais da torção do cordão espermático foram estudados nos últimos 50 anos, na tentativa de reproduzir os distúrbios circulatórios encontrados na torção do cordão espermático humano. A isquemia testicular experimental pode ser obtida por oclusão da artéria espermática por ligadura, pinçamento ou torção do cordão espermático. Os primeiros modelos utilizaram a ligadura vascular para produzir a isquemia (MERIMSKY et al., 1982; ORTOLANO e NASRALLAH, 1986).

Palmer et al., (1997) estudaram diferentes modelos de isquemia testicular experimental em ratos Sprague-Dawley e concluíram, baseados em medições realizadas com o fluxômetro Doppler de raios laser, que o pinçamento do cordão espermático produz, no rato, uma isquemia mais importante que aquela obtida com a torção testicular de 720°.

Outros modelos foram estudados, variando da ligadura parcial do cordão espermático à torção testicular com rotação crescente de 90° a 1.440°, em diferentes animais: MERIMSKY et al., 1982 (rato Charles River); CERASARO et al., 1984 (coelho); JHUNJHUNWALA et al., 1986 (cobaia Hartley); OZGUR et al., 1990 (cão); MARKLEY et al., 1994 (carneiro); LIEVANO et al., 1999 (leitão).

1.9. Isquemia testicular experimental em animais

A espermatogênese, no rato, se inicia 4-6 dias após o nascimento e a fase pré-puberal, correspondente à adolescência humana, se inicia na 5ª semana e se completa na 7ª semana de vida do animal (CONSENTINO et al., 1985; Clermont e Perey, *apud* ARAUJO, 1998).

Há uma plethora de trabalhos descrevendo a existência ou ausência de alterações histológicas contralaterais secundárias à torção testicular unilateral, em diversos animais. York e Drago (1985) estudaram os efeitos da isquemia testicular em ratos Noble adultos e encontraram alterações significativas no testículo contralateral, quando a torção durava mais de 3 horas.

Ortolano e Nasrallah (1986) estudaram os efeitos da ligadura da artéria espermática em ratos Sprague-Dawley adultos e pré-púberes e encontraram alterações da espermatogênese no testículo isquêmico. No testículo contralateral foi observado apenas discreto comprometimento daquela função.

Ralichkova et al., (1990) comprovaram a presença de lesões graves e irreversíveis comprometendo o testículo contralateral do rato Wistar adulto, após 4 horas de torção testicular.

Sanjuan Rodriguez et al., (1989) estudaram as alterações da espermatogênese pós-torção testicular em modelos experimentais e encontraram alterações significativas (diminuição do número, menor sobrevivência e tendência à aglutinação dos espermatozoides) no esperma oriundo do testículo contralateral, observando no entanto que essas alterações eram mais pronunciadas nos animais adultos.

Cerasaro et al., (1984) estudaram a histologia do testículo contralateral de coelhos submetidos à TT de 36-72 horas de duração ou à ligadura dos vasos espermáticos; não sendo encontradas lesões histológicas contralaterais nos animais submetidos à ligadura dos vasos.

Madgar et al., (1987) submeteram ratos Charles River adultos à isquemia testicular utilizando diferentes métodos: torção e ligadura dos vasos testiculares, seguida de orquiectomia ou remoção da ligadura após 24 e 48 horas. Após 10 semanas os testículos foram estudados, não sendo encontradas alterações histológicas no testículo contralateral.

Tarhan et al., (1996) estudaram os efeitos da TT em coelhos adultos, com períodos de isquemia variando de 1 e 8 horas, concluindo que embora ocorressem alterações no testículo isquêmico, o mesmo não ocorria no testículo contralateral, contrariando os achados de Cerasaro et al., (1984).

A maioria dos autores utilizou animais adultos nos experimentos e a existência de lesões contralaterais foi amplamente confirmada (MERIMSKY et al., 1984; SAN JUAN RODRIGUEZ et al., 1984; KOGAN et al., 1986; AKGÜR et al., 1993; AKGÜR et al., 1994; KARAGÜZEL et al., 1995; KOLETTIS et al., 1996; SALMAN et al., 1997; SARICA et al., 1997; ANDIRAN et al., 1999; KOSAR, 1999). A lesão contralateral, em ratos pré-púberes, foi objeto de estudo em grande número de publicações, sendo demonstrada por vários pesquisadores (HARRISON et al., 1981;

CERASARO et al., 1984; COSENTINO et al., 1985; BLANK et al, 1993; PAREDES ESTEBAN et al., 1999) e contestada, por outros (ORTOLANO e NASRALLAH, 1986; HEINDEL et al., 1990). Nagler et al., (1984) não encontraram alterações no testículo contralateral do rato pré-púbere após destorção, nas isquemias de curta duração. Entretanto, as lesões estavam presentes em 60 a 80% dos animais, após 8 horas de isquemia.

A inexistência de publicação sobre as alterações do metabolismo oxidativo da glicose, no testículo, induzidas por isquemia decorrente de torção testicular unilateral, serviu de estímulo para a realização deste trabalho.

2. OBJETIVO

Investigar, em ratos Wistar pré-pubescentes, os efeitos da isquemia induzida por torção unilateral do cordão espermático na glicemia e na concentração tecidual de glicose e ATP, *in vivo*.

3. MÉTODO

A pesquisa experimental foi realizada de acordo com as Normas Internacionais para a Pesquisa Biomédica em Animais (CONSEJO DE ORGANIZACIONES INTERNACIONALES DE CIÊNCIAS MÉDICAS, 1990) e de acordo com a Lei Federal n.º 6.638 (Estabelece normas para a prática didático-científica da vivissecção de animais), de 08 de maio de 1979.

3.1. A amostra

Foram utilizados, para a realização do presente estudo, 60 ratos machos, brancos, pré-púberes, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), saudáveis e bem nutridos, com idades variando entre 40 e 42 dias (média: 40,05 dias). O peso dos animais variou de 97 a 170g (média: 129,50g).

Todos os animais submetidos ao estudo eram provenientes do Biotério de Pequenos Animais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará.

Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, providas de tampa com grade metálica de aço inoxidável, forradas com maravalhas, alojados em dependência com ventilação e iluminação controladas e alimentados com ração balanceada tipo purina e água *ad libitum*, permitindo-se a aclimação por período de 19-21 dias, até que atingissem a idade definida (40-42 dias) para a realização do experimento.

A higienização das gaiolas e o exame dos animais foram realizados diariamente pelo técnico responsável e pelo pesquisador, respectivamente.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em ambiente refrigerado, no Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará.

A fixação do testículo torcido foi realizada por técnica atraumática (FIGURA 3), evitando-se a sutura transparenquimal (RYAN et al., 1988).

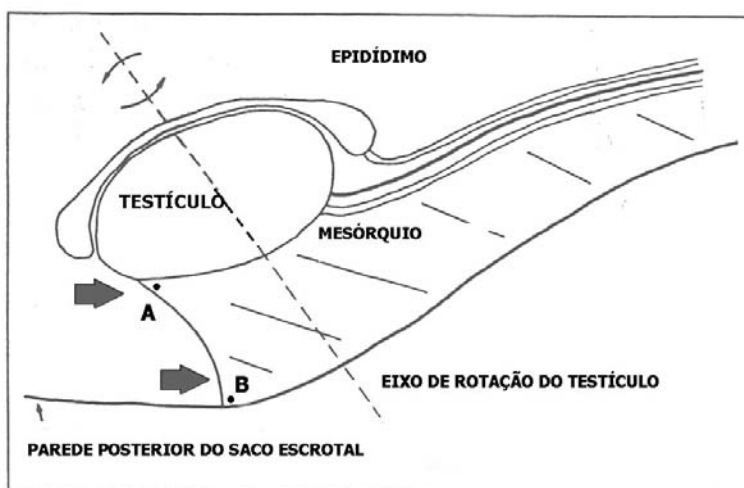


FIGURA 3. Torção testicular experimental: modelo atraumático. A borda inferior ou margem livre do mesórquio é a estrutura entre os pontos A e B da ilustração. A fixação do testículo após a torção experimental é obtida pela aproximação dos pontos A e B. (modificado de Ryan et al., 1988).

Os 60 ratos foram distribuídos aleatoriamente, em 2 grupos: Grupo 1 (Operação Simulada) e Grupo 2 (Isquemia / Destorção). Cada grupo recebeu 30 animais, subdivididos em 5 subgrupos, com 6 ratos, cada.

Os ratos do Grupo 1 foram submetidos à anestesia geral inalatória, com éter dietílico, antissepsia da pele, abertura da bolsa escrotal, exteriorização do testículo direito, torção de 720° no sentido anti-horário, destorção imediata, reposição do testículo na bolsa escrotal e sutura da pele. Decorrida uma hora, os animais foram novamente anestesiados; os pontos de sutura da pele removidos e a bolsa escrotal reaberta, seguindo-se a exteriorização e reposição do testículo na bolsa, sutura da pele, suspensão da anestesia e retorno do animal à gaiola, sendo permitida a ingestão de água *ad libitum.*, com exceção dos animais do subgrupo 0 h que foram submetidos à orquiectomia e coleta de sangue arterial. Após um período variável de reperfusão (30 minutos, 1, 6 e 24 horas), os animais remanescentes (subgrupos 0,5 h, 1 h, 6 h e 24 h, respectivamente) foram novamente anestesiados e os testículos removidos, iniciando o procedimento pelo lado direito, seguindo-se a coleta de sangue arterial, por punção da aorta abdominal, após prévia laparotomia.

Os ratos do Grupo 2 foram submetidos à anestesia geral inalatória, com éter dietílico, antissepsia da pele, abertura da bolsa escrotal, exteriorização do testículo

direito, torção de 720° no sentido anti-horário, fixação por técnica atraumática, reposição do testículo na bolsa escrotal e sutura da pele. Decorrida uma hora, nova anestesia, remoção dos pontos de sutura da pele, reabertura da bolsa escrotal, exposição, exteriorização, destorção e reposição do testículo na bolsa, sutura da pele, suspensão da anestesia e retorno do animal à gaiola, sendo permitida a ingestão de água *ad libitum*. Nesta ocasião, os ratos do subgrupo 0 h foram submetidos à orquiectomia bilateral e coleta de sangue arterial. Após um período variável de reperusão (30 minutos, 1, 6 e 24 horas), os animais remanescentes do Grupo 2 (subgrupos 0,5 h, 1 h, 6 h e 24 h, respectivamente) foram novamente anestesiados e seus testículos removidos, iniciando o procedimento pelo lado direito, seguindo-se a coleta de sangue arterial, por punção da aorta abdominal, após prévia laparotomia. Todos os animais foram sacrificados individualmente, após a remoção dos testículos e coleta de amostra do sangue arterial, em campânula contendo chumaços de algodão embebidos em éter dietílico, em alta concentração, até a parada completa dos sinais vitais.

3.2. O estudo

3.2.1. Pré-operatório

Os ratos foram deixados em jejum por 12 horas, sendo fornecida água potável *ad libitum*. No intervalo entre as etapas do estudo a alimentação sólida dos animais permaneceu suspensa sendo, no entanto, permitida a ingestão de água potável *ad libitum*.

3.2.2. Anestesia

Foi aplicada individualmente a anestesia inalatória, alojando-se o animal em campânula de acrílico contendo em seu interior uma camada de algodão umedecido em éter dietílico. Sob anestesia, o animal era retirado da campânula e imobilizado sobre uma prancha de madeira revestida por uma lâmina de plástico fenólico, com

extensão das quatro patas e em decúbito dorsal. A anestesia foi mantida com máscara de éter etílico e ar ambiente, em respiração espontânea.

3.2.3. Técnica operatória

A sistematização da técnica operatória, após pesagem prévia de cada animal, obedeceu as seguintes etapas:

- a- após indução da anestesia, o animal foi colocado em decúbito dorsal, com as patas dianteiras e traseiras fixadas à prancha por ligas elásticas;
- b- depilação da bolsa escrotal por tricotomia e tração manual dos pêlos;
- c- anti-sepsia da bolsa escrotal e região inguinal com Iodopovidona (Povidine®);
- d- exploração testicular por acesso direto através de uma incisão oblíqua do saco escrotal direito, liberação do dartos do tecido escrotal adjacente, abertura do músculo e exposição do testículo e epidídimo;
- e- Exteriorização do testículo (Figura 4);

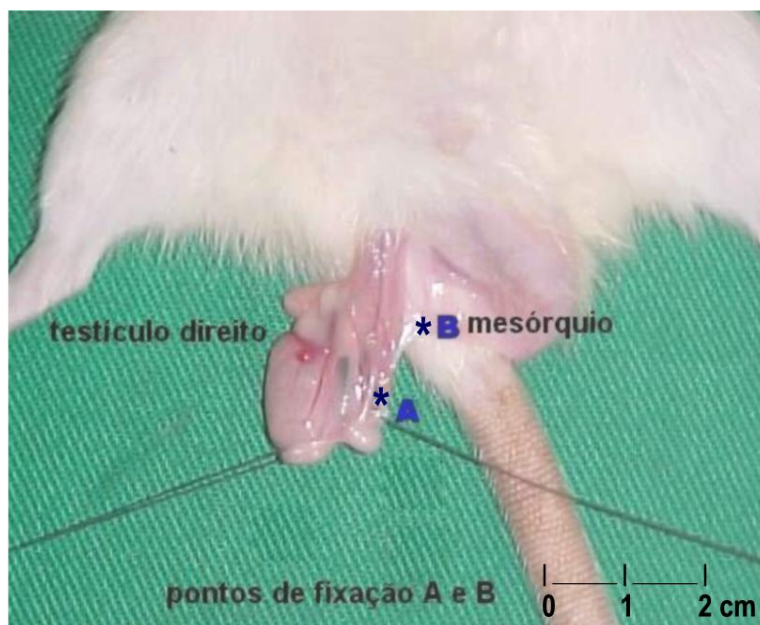


FIGURA 4: Estruturas espermáticas do Rato Wistar.

- f- isquemia do testículo direito por torção de 720° graus no sentido anti-horário (duas voltas completas) do cordão espermático, em torno do seu eixo transversal (Figura 5);
- g- torção seguida por destorção, sem fixação, do testículo direito nos animais do Grupo 1; fixação do testículo, após torção (Grupo 2), para evitar-se a destorção espontânea, segundo a técnica preconizada por Ryan et al., (1988).



FIGURA 5: Testículo direito torcido.

- h- fechamento do saco escrotal em um só plano com suturas contínuas, utilizando fio de seda 4-0;
- i- interrupção da anestesia, liberação do animal e retorno à gaiola.
- j- Após 1 hora, foi realizado novo procedimento para exteriorizar o testículo ou destorcê-lo (FIGURA 6), obedecendo-se as mesmas rotinas descritas acima (alíneas a,c,e), remoção das suturas do saco escrotal, liberação do testículo por remoção da sutura de fixação quando presente, destorção ou apenas exteriorização (Grupo 1) e reposição da gônada na cavidade escrotal, seguindo-se a sutura da bolsa escrotal (alínea h). Nos animais do subgrupo

0 h procedeu-se à remoção dos testículos e coleta de amostra de sangue arterial.



FIGURA 6: Testículo após a destorção



FIGURA 7: Testículo direito 30 minutos após a destorção

nos períodos pré-estabelecidos para cada subgrupo (30 minutos, 1 hora, 6 horas e 24 horas), sob anestesia com éter etílico, procedeu-se a exérese dos testículos, iniciando-se pela remoção do testículo direito (FIGURA 7). Seguiu-se a laparotomia mediana com exteriorização das alças intestinais, exposição do peritônio posterior, identificação da artéria aorta abdominal e punção para a colheita de amostra de sangue arterial ao nível da bifurcação das artérias ilíacas. Subseqüentemente, os animais foram sacrificados individualmente, em campânula contendo chumaços de algodão embebidos em éter etílico, em alta concentração, até a parada completa dos sinais vitais.

3.2.4. Preparação dos espécimes (sangue e tecido testicular)

Imediatamente após a ablação cirúrgica, os testículos foram prensados e mergulhados em nitrogênio líquido a cerca de 190 graus centígrados negativos, e posteriormente, transformados em pó, individualmente, em recipiente de porcelana, mantendo-se o tecido congelado durante o procedimento, pelo uso de nitrogênio líquido (WILLIAMSON et al., 1967).

O sangue arterial heparinizado (1 ml) foi obtido por punção da aorta abdominal. Tanto os testículos como o sangue arterial congelados foram reduzidos a pó e colocados em tubos de ensaio diferentes contendo ácido perclórico a 10% (5,0 ml) Assim, as proteínas foram rapidamente inativadas e puderam ser removidas por centrifugação (2000 rotações por minuto, durante 10 minutos). O precipitado resultante foi desprezado e o sobrenadante (extrato ácido) foi colocado em tubos de ensaio de vidro de 10 ml, previamente pesados. Os tubos foram novamente pesados, obtendo-se desta forma o volume ácido. A adição de um indicador universal de pH juntamente com uma solução de Hidróxido de Potássio 20% permitiu ajustar-se o PH entre 7 e 8.

Para a obtenção do extrato neutro, os tubos foram novamente pesados e centrifugados (2000 rotações por minuto, durante 10 minutos); o sobrenadante (extrato neutro) foi usado para a análise espectrofotométrica dos metabólitos.

Para preservação, as amostras foram armazenadas congeladas a 20 graus centígrados negativos.

3.2.5. Determinação dos metabólitos

No presente estudo, métodos enzimáticos foram utilizados para a determinação dos metabólitos nos testículos (Trifosfato de adenosina e D-glicose) e no sangue (D-glicose).

3.2.5.1 Determinação do Trifosfato de adenosina (ATP) e da D-glicose-6-fosfato no sangue e nos testículos

As concentrações de Trifosfato de adenosina (ATP) e de D-glicose-6-fosfato (G6P) no sangue e no tecido (testículo) foram determinadas utilizando-se uma combinação dos métodos descritos por Lamprecht & Traushould (1963) e Hohorst (*apud* VASCONCELOS, 1987), usando a mesma cubeta. A Hexoquinase catalisa a fosforilação da glicose com o ATP, na presença do Mg⁺⁺, produzindo a glicose-6-fosfato. A glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) catalisa a oxidação da glicose-6-fosfato com o NADP. Cada mol de ATP forma 1 mol de NADPH.

Seqüência da reação:



Na presença de concentrações equivalentes de glicose e Mg⁺⁺ o ATP é convertido quantitativamente pela hexoquinase em ADP. O equilíbrio da reação tende para a direita, o que garante o término completo de ambas as reações, pois a glicose-6-fosfatase formada na primeira reação é rapidamente consumida na reação seguinte.

Solução tampão para o ensaio:

10 ml Tris 0,1M pH 7.4

1 mg/ml NADP

2 ml MgCl₂ 0,1M

0,5ml Glicose 0,1M

A solução foi renovada para cada ensaio. O volume total em cada cubeta foi de 2,0 ml, consistindo de 0,5 ml de extrato ácido (HClO₄) da amostra (testículo), 0,5 ml de água destilada e 1,0 ml de solução tampão. A cubeta controle continha 1,0 ml de água destilada e 1,0 ml da solução tampão. Todas as cubetas foram lidas a 340 nm antes e 5-10 minutos após a adição de 0,005 ml de glicose-6-fosfato-desidrogenase; posteriormente foram adicionados 0,005 ml de Hexoquinase e efetuadas novas leituras, passados 10 e 15 minutos.

3.2.5.2. Determinação da D-Glicose

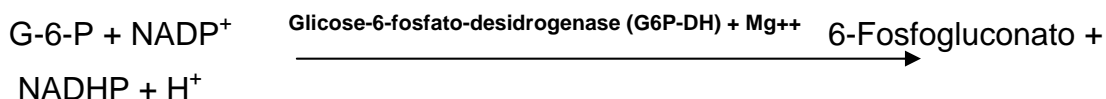
A determinação das concentrações de glicose no sangue e no testículo foi processada de acordo com o método descrito por Slein (1963).

Seqüência da reação:

a) Reação auxiliar:



b) Reação indicadora:



Com o pH 7,5, o equilíbrio para a reação indicadora tende para a direita, o que garante o término completo de ambas as reações, pois a glicose-6-fosfatase formada na primeira reação é rapidamente consumida na reação seguinte. Embora a

hexoquinase catalise a fosforilação de vários outros monossacarídeos, a especificidade do ensaio provem da glicose-6-fosfato desidrogenase (G₆PD), que reage exclusivamente com a glicose-6-fosfato.

Solução tampão para o ensaio:

20 ml de solução tampão Tris 0,1 M pH 8,0

0,2 ml de Cloreto de magnésio 0,1 M

0,2 ml de ATP 0,01 M

0,2 ml de NAD 1%

0,13 ml de G₆PD (1 mg/ml)

A solução foi renovada para cada ensaio. O volume total de cada cubeta foi de 2 ml, consistindo de 0,2 ml da amostra neutralizada, 0,8 ml de água destilada e 1 ml da solução tampão. Todas as cubetas foram lidas a 340 nm antes e 10 e 15 minutos após adição de 0,01 ml de Hexoquinase.

3.2.5.3. Cálculos dos metabólitos no sangue e no testículo

As concentrações dos metabólitos foram determinadas no testículo (ATP e glicose) e no sangue (glicose). Todos os cálculos efetuados tomaram como base as alterações de densidade óptica, medida à 340 nm nas amostras das cubetas, após a adição da enzima; as mudanças inespecíficas verificadas nas cubetas de controle foram subtraídas dos resultados.

Em resumo:

Diferença de densidade óptica (DDO) = (Alteração da absorbância da amostra na cubeta) – (Alteração na absorbância na cubeta controle).

Como o coeficiente molar de extinção de NADH é 6,22 cm²/μmol, a quantidade de substrato na cubeta é igual a (DDO/6,22) x volume total na cubeta.

Este resultado é então multiplicado por um fator de diluição para cada amostra, resultando na concentração do substrato.

Os cálculos foram realizados utilizando-se as seguintes fórmulas:

No sangue:

$$R 1 = \frac{\text{Peso do sangue + peso do ácido (HClO}_4\text{)}}{\text{Peso do sangue}}$$

$$R 2 = \frac{\text{Peso (volume) do extrato neutro}}{\text{Peso (volume) do extrato ácido}}$$

$$R 3 = \frac{\text{Volume total na cubeta}}{\text{Volume do extrato neutro na cubeta}}$$

$$R 4 = \frac{\text{Diferença de densidade óptica (DDO)}}{6,22}$$

(Peso do sangue + HClO₄/peso do sangue) x (peso extrato neutro/peso extrato ácido) x (volume total na cubeta/volume extrato neutro na cubeta) x (DDO/6,22)
= μmol do metabólito/ml de sangue.

No testículo:

$$R 1 = \frac{\text{Peso do testículo + peso do ácido (HClO}_4\text{)}}{\text{Peso do testículo}}$$

$$R 2 = \frac{\text{Peso (volume) do extrato neutro}}{\text{Peso (volume) do extrato ácido}}$$

$$R 3 = \frac{\text{Volume total na cubeta}}{\text{Volume do extrato neutro na cubeta}}$$

$$R\ 4 = \frac{\text{Diferença de densidade óptica (DDO)}}{6,22}$$

(Peso do testículo + HClO₄/peso do testículo) x (peso extrato neutro/peso extrato ácido) x (volume total na cubeta/volume extrato neutro na cubeta) x (DDO/6,22) = μmol do metabólito/g de tecido testicular fresco.

3.3. Análise estatística

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM) acompanhados pelo número de observações (n). Foram utilizados para análise dos resultados, métodos não-paramétricos, tendo em vista a natureza das distribuições das variáveis analisadas e a variabilidade dos dados.

Foram aplicados os seguintes testes, utilizando-se o programa de análise estatística *GraphPad Prism*® versão 3.00 para *Windows*:

- a) teste de MANN-WHITNEY para duas amostras independentes, para comparação dos grupos experimento (Isquemia / Reperfusão) e controle (Operação Simulada). Cada um dos períodos de tempo estudados no grupo Isquemia/Reperfusão foi comparado ao respectivo período do grupo controle (Operação Simulada).
- b) teste de WILCOXON (*Wilcoxon Signed Rank Sum*) para a comparação dos valores das variáveis (concentrações de glicose e ATP) nos testículos direito (isquêmico - ipsilateral) e esquerdo (controle - contralateral) do mesmo animal.
- c) teste de KRUSKAL-WALLIS (Teste de Comparações Múltiplas de DUNN), para a comparação das concentrações de ATP e glicose,

durante os diferentes tempos de reperfusão com o valor obtido ao término da isquemia ou da operação simulada em cada um dos testículos.

A significância estatística foi fixada em 0,05% ($p < 0,05$), assinalando-se com o asterisco (*) os valores significantes.

4. RESULTADOS

4.1. Concentração de glicose nos testículos e no sangue

No presente estudo, a torção testicular de 720°, mantida por uma hora, motivou uma queda significativa da concentração de glicose ($0,211 \pm 0,09 \mu\text{mol/g}$ versus $2,257 \pm 0,13 \mu\text{mol/g}$ – $p < 0,05$) no tempo 0 h (imediatamente após 60 minutos de isquemia). Não houve diferenças estatísticas significantes nos demais tempos estudados (0,5 h; 1 h; 6 h; 24 h). (TABELA 1, FIGURA 8).

A concentração da glicose aumentou de modo significativo ($p < 0,05$) nos testículos direitos, durante a reperfusão, nos animais do Grupo 2 (Isquemia) nos tempos 1 h ($p < 0,05$) e 24 h ($p < 0,05$) quando comparada à concentração aferida no tempo 0 h. (TABELA 1, FIGURA 8).

Houve queda significativa da concentração de glicose durante a reperfusão, no testículo direito dos animais submetidos à operação simulada, nos tempos 0,5 h ($p < 0,05$) e 6 h ($p < 0,05$) quando comparada a concentração de glicose no testículo direito no tempo 0 h. (TABELA 1, FIGURA 8).

TABELA 1: Concentração de glicose ($\mu\text{mol/g}$ de tecido fresco) no testículo direito

	Tempo de reperfusão (horas)				
	0	0,5	1	6	24
Grupo 1	2,257	0,759 †	1,810	0,897 †	1,872
	\pm 0,13	\pm 0,16	\pm 0,18	\pm 0,05	\pm 0,49
Grupo 2	0,211*	0,606	1,097 ‡	0,828	1,175 ‡
	\pm 0,09	\pm 0,19	\pm 0,25	\pm 0,15	\pm 0,19

Grupo 1 – Operação Simulada

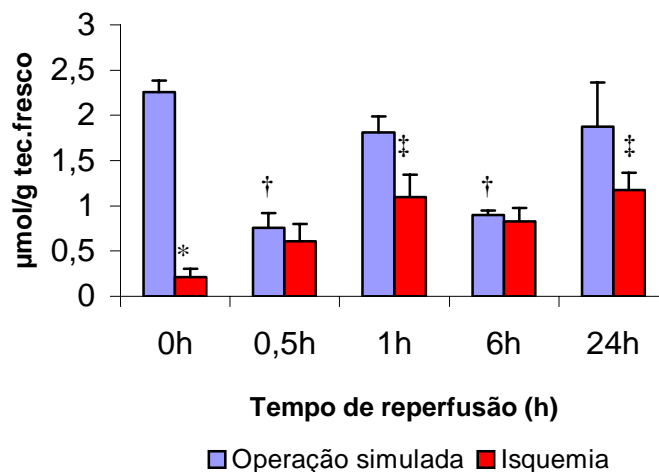
Grupo 2 – Isquemia

Resultados expressos como Média \pm EPM (n = 6, cada subgrupo).

* $p < 0,05$ comparado ao tempo 0 (Grupo 2 versus Grupo 1) - Teste de Mann-Whitney

† $p < 0,05$ comparado ao tempo 0 (Grupo 1) Teste de Dunn.

‡ $p < 0,05$ comparado ao tempo 0 (Grupo 2) Teste de Dunn.



* $p < 0,05$ comparado ao tempo 0 - Grupo 2 *versus* Grupo 1 - Teste de Mann-Whitney

† $p < 0,05$ comparado ao tempo 0 (Grupo 1) - Teste de Dunn.

‡ $p < 0,05$ comparado ao tempo 0 (Grupo 2) - Teste de Dunn.

FIGURA 8 - Concentração de glicose no testículo direito

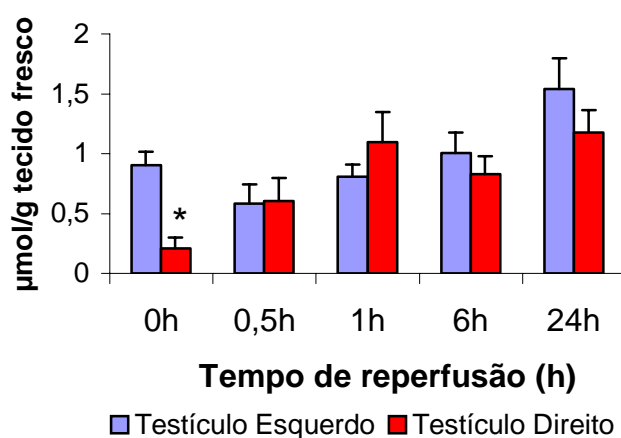
Comparando-se as concentrações de glicose nos testículos do mesmo animal do Grupo 2 (Isquemia), observou-se uma queda significativa da concentração de glicose no testículo direito ($p < 0,05$) no tempo 0 h quando comparada à concentração de glicose no testículo esquerdo no mesmo intervalo (tempo 0 h). Não houve diferenças significantes nos demais tempos estudados (0,5 h; 1 h; 6 h; 24 h). (TABELA 2, FIGURA 9).

TABELA 2: Concentração de glicose ($\mu\text{mol/g}$ de tecido fresco) nos testículos direito e esquerdo (Grupo 2 – Isquemia)

	Tempo de reperfusão (horas)				
	0	0,5	1	6	24
Testículo E	0,906 \pm 0,11	0,582 \pm 0,16	0,808 \pm 0,10	1,006 \pm 0,17	1,539 \pm 0,26
Testículo D	0,211 * \pm 0,09	0,606 \pm 0,19	1,097 \pm 0,25	0,828 \pm 0,15	1,175 \pm 0,19

Resultados expressos como Média \pm EPM (n = 6, cada subgrupo).

* p < 0,05 - comparado ao testículo esquerdo - tempo 0 (Teste de Wilcoxon)



* p < 0,05 comparado ao testículo esquerdo – tempo 0 (Teste de Wilcoxon)

FIGURA 9 - Concentração de glicose no testículo (Grupo 2 – Isquemia)

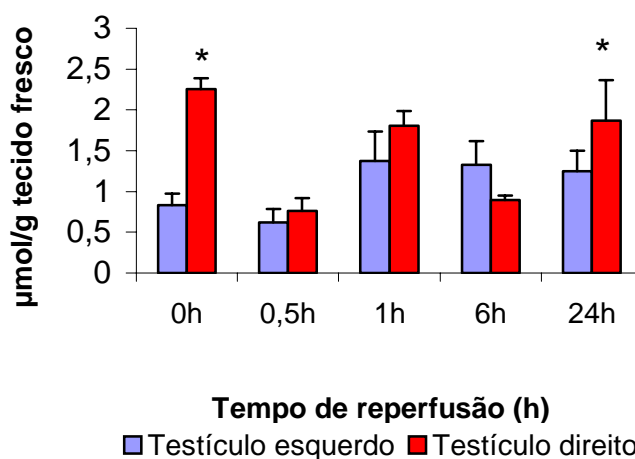
Houve aumento significativo (p < 0,05) nas concentrações de glicose no testículo direito dos ratos do Grupo 1 (Operação Simulada) quando comparadas às concentrações de glicose no testículo esquerdo nos tempos 0 h e 24 h (TABELA 3, FIGURA 10).

TABELA 3: Concentração de glicose ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) nos testículos direito e esquerdo (Grupo 1 – Operação Simulada)

	Tempo de reperfusão (horas)				
	0	0,5	1	6	24
Testículo E	0,832 \pm 0,14	0,617 \pm 0,17	1,374 \pm 0,36	1,327 \pm 0,29	1,250 \pm 0,25
Testículo D	2,257 * \pm 0,13	0,759 \pm 0,16	1,810 \pm 0,18	0,897 \pm 0,05	1,872 * \pm 0,49

Resultados expressos como Média \pm EPM (n = 6, cada subgrupo).

* p < 0,05 - comparado ao testículo esquerdo (Teste de Wilcoxon)



* p < 0,05 - comparado ao testículo esquerdo (Teste de Wilcoxon)

FIGURA 10 - Concentração de glicose no testículo (Grupo 1 – Operação simulada)

Não foram observadas diferenças significantes na concentração de glicose, no testículo esquerdo dos ratos submetidos à operação simulada ou isquemia do testículo direito, nos diversos tempos estudados (0,5 h; 1 h; 6 h e 24 h), quando comparada à concentração de glicose aferida no tempo 0 h (TABELA 4, FIGURA 11).

TABELA 4: Concentração de glicose ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no testículo esquerdo nos diferentes tempos de perfusão

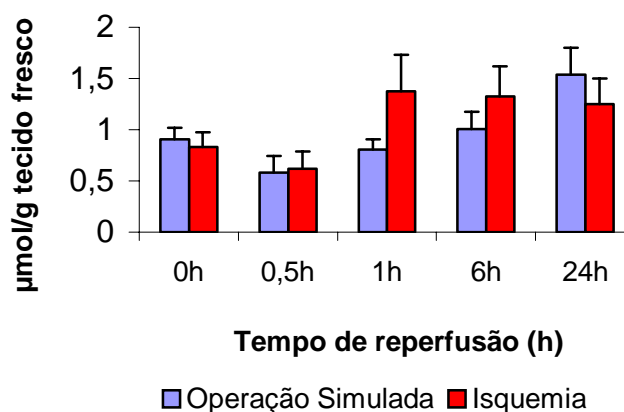
	Tempo de reperfusão (horas)				
	0	0,5	1	6	24
Grupo 1	0,832 \pm 0,14	0,617 \pm 0,17	1,374 \pm 0,36	1,327 \pm 0,29	1,250 \pm 0,25
Grupo 2	0,906 \pm 0,11	0,582 \pm 0,16	0,808 \pm 0,10	1,006 \pm 0,17	1,539 \pm 0,26

Grupo 1 – Operação Simulada

Grupo 2 – Isquemia

Resultados expressos como Média \pm EPM (n=6, cada subgrupo).

Análise de Kruskal-Wallis (Teste de Comparações Múltiplas de Dunn).



(Teste de Dunn)

FIGURA 11 - Concentração de glicose no testículo esquerdo

A comparação das taxas de glicemia no tempo 0 h (grupos 1 e 2) com as médias das concentrações de glicose sanguínea aferidas durante a reperfusão mostrou valores semelhantes em ambos os grupos, em todos os tempos estudados (0,5 h; 1 h; 6 h; 24 h). (TABELA 5, FIGURA 12)

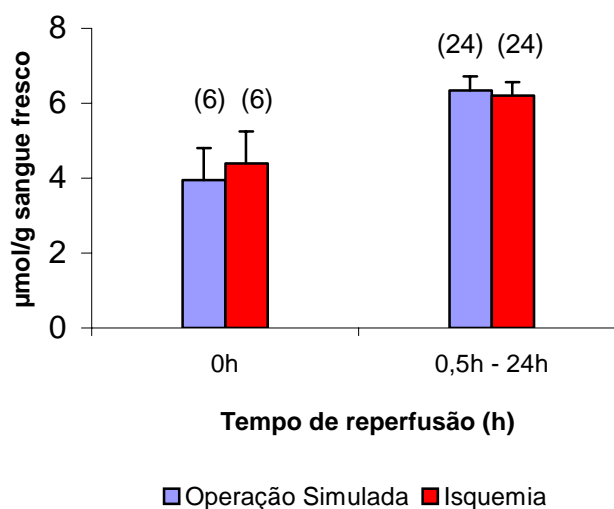
TABELA 5: Concentração sanguínea de glicose ($\mu\text{mol/g}$ sangue)

	Tempo de reperfusão (horas)	
	0 h	0,5 - 24 h
Grupo 1	3,95 \pm 0,85 (6)	6,35 \pm 0,42 (24)
Grupo 2	4,39 \pm 0,36 (6)	6,21 \pm 0,23 (24)

Grupo 1 – Operação Simulada

Grupo 2 – Isquemia

Resultados expressos como Média \pm EPM, com número de experimentos entre parênteses. Teste de Mann-Whitney.



Teste de Mann-Whitney
(Número de experimentos entre parênteses)

FIGURA 12 - Glicemia

4.2. Concentração de ATP nos testículos

A torção testicular de 720°, mantida por uma hora, motivou uma queda significativa da concentração de ATP ($p < 0,05$) no tempo 0 h (imediatamente após 60 minutos de isquemia), nos testículos direitos dos ratos do Grupo 2 (Isquemia). Não houve diferenças significantes nos demais tempos estudados (0,5 h; 1 h; 6 h; 24 h). (TABELA 6, FIGURA 13).

Não foram encontradas diferenças significantes, durante a reperfusão, comparando-se as concentrações de ATP nos testículos direitos (TABELA 6, FIGURA 13) ao término (tempo 0 h) do período de isquemia ou cirurgia simulada com as concentrações de ATP encontradas no diversos tempos de reperfusão (0,5 h; 1 h; 6 h; 24 h).

TABELA 6: Concentração de ATP ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no testículo direito

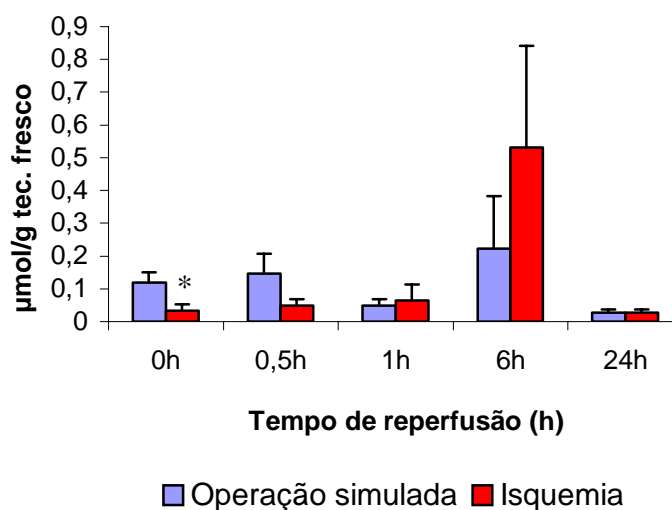
	Tempo de reperfusão (horas)				
	0	0,5	1	6	24
Grupo 1	0,120 \pm 0,03	0,146 \pm 0,06	0,049 \pm 0,02	0,222 \pm 0,16	0,028 \pm 0,01
Grupo 2	0,033 * \pm 0,02	0,049 \pm 0,02	0,064 \pm 0,05	0,531 \pm 0,31	0,027 \pm 0,01

Grupo 1 – Operação Simulada
Isquemia

Grupo 2 –

Resultados expressos como Média \pm EPM. (n = 6, cada subgrupo).

* $p < 0,05$ – comparado ao Grupo 1 – tempo 0 (Teste de Mann-Whitney)



* $p < 0,05$ – comparado ao Grupo 1 – tempo 0 (Teste de Mann-Whitney)

FIGURA 13 - Concentração de ATP no testículo direito

Comparando-se as concentrações de ATP nos testículos dos ratos do Grupo 2 (Isquemia), não foram observadas diferenças significantes nas concentrações de ATP aferidas nos testículos direitos *versus* testículos esquerdos dos animais em nenhum dos tempos estudados (0 h; 0,5 h; 1 h; 6 h; 24 h). (TABELA 7, FIGURA 14)

TABELA 7: Concentração de ATP ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) nos testículos direito e esquerdo (Grupo 2 – Isquemia)

	Tempo de reperfusão (horas)				
	0	0,5	1	6	24
Testículo E	0,035 \pm 0,02	0,021 \pm 0,02	0,072 \pm 0,04	0,482 \pm 0,22	0,032 \pm 0,01
Testículo D	0,033 \pm 0,02	0,049 \pm 0,02	0,064 \pm 0,05	0,531 \pm 0,31	0,027 \pm 0,01

Resultados expressos como Média \pm EPM (n = 6, cada subgrupo).
Teste de Wilcoxon

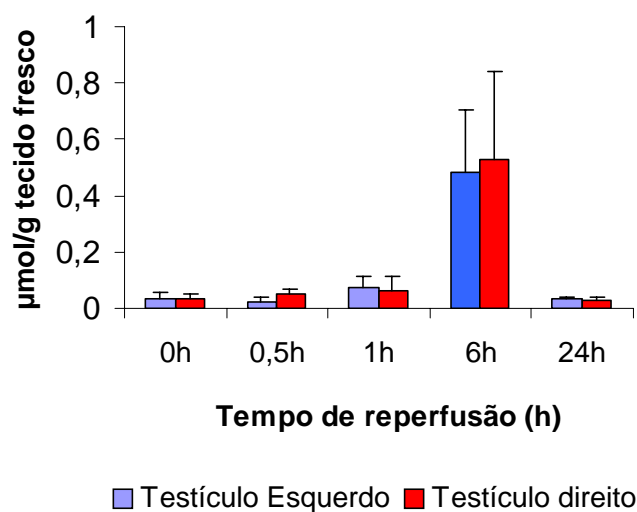


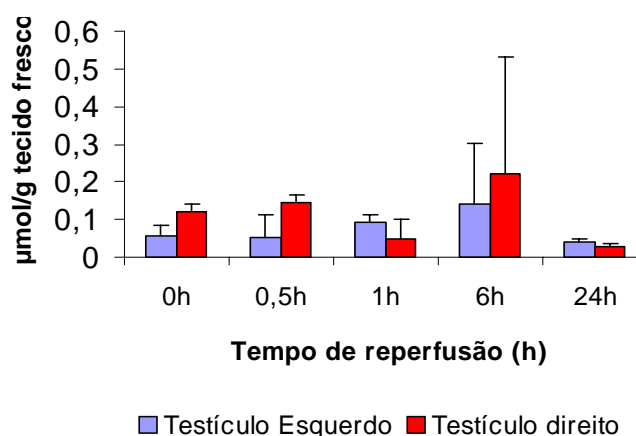
FIGURA 14 - Concentração de ATP nos testículos direito e esquerdo (Grupo 2 – Isquemia)

Comparando-se as concentrações de ATP nos testículos dos ratos do Grupo 2 (Isquemia), não foram observadas diferenças significantes nas concentrações de ATP aferidas nos testículos direitos *versus* testículos esquerdos dos animais em nenhum dos tempos estudados (0 h; 0,5 h; 1 h; 6 h; 24 h). (TABELA 8, FIGURA 15)

TABELA 8: Concentração de ATP ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) nos testículos direito e esquerdo (Grupo 1 – Operação Simulada)

	Tempo de reperfusão (horas)				
	0	0,5	1	6	24
Testículo E	0,055 \pm 0,03	0,054 \pm 0,03	0,091 \pm 0,04	0,142 \pm 0,12	0,040 \pm 0,02
Testículo D	0,120 \pm 0,03	0,146 \pm 0,06	0,049 \pm 0,02	0,222 \pm 0,16	0,028 \pm 0,01

Resultados expressos como Média \pm EPM (n = 6, cada subgrupo).
Teste de Wilcoxon



Teste de Wilcoxon

FIGURA 15 - Concentração de ATP no testículo (Grupo 1 - Operação simulada)

Não foram encontradas diferenças significantes, durante a reperfusão, comparando-se as concentrações de ATP nos testículos esquerdos (TABELA 9, FIGURA 16) ao término (tempo 0 h) do período de isquemia ou torção simulada com as concentrações de ATP encontradas no diversos tempos de reperfusão (0,5 h; 1 h; 6 h; 24 h).

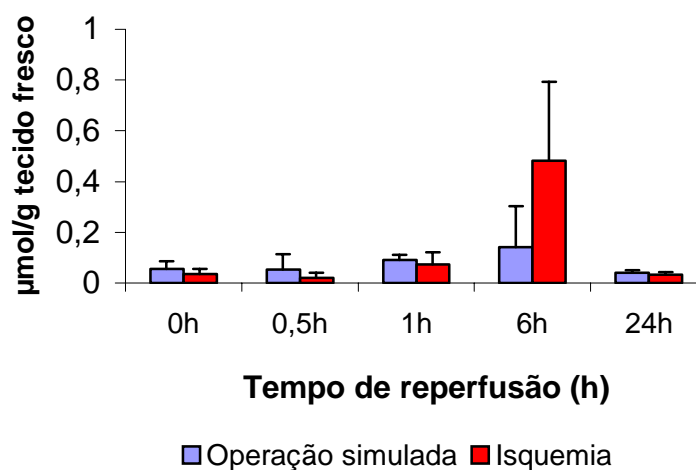
TABELA 9: Concentração de ATP ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no testículo esquerdo nos diferentes tempos de perfusão

	Tempo de reperfusão (horas)				
	0	0,5	1	6	24
Grupo 1	0,055	0,054	0,091	0,142	0,040
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	0,03	0,03	0,04	0,12	0,02
Grupo 2	0,035	0,021	0,072	0,482	0,032
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	0,02	0,02	0,04	0,22	0,01

Grupo 1 – Operação Simulada

Grupo 2 – Isquemia

Resultados expressos como Média \pm EPM (n=6, cada subgrupo). Análise de Kruskal-Wallis (Teste de Comparações Múltiplas de Dunn).



(Teste de Dunn)

FIGURA 16 - Concentração de ATP no testículo esquerdo

5. DISCUSSÃO

O rato foi o animal de experimentação escolhido para esse estudo, por tratar-se de um mamífero de baixo custo de aquisição e manutenção e apresentar elevada resistência à infecção e ao trauma cirúrgico (FESTING, 1979), tendo sido empregado, por inúmeros pesquisadores, no estudo da isquemia testicular experimental (LUDWIG et al., 1980; MERIMSKY et al., 1982; MERIMSKY et al., 1984; COSENTINO et al., 1985; KOGAN et al., 1986; MADARIKAN, 1987; JANETSCHEK et al., 1988; HEINDEL et al., 1990; GOTO, 1991; SAKAI et al., 1992; COSTABILE et al., 1993; AKGÜR et al., 1994; KARAGÜZEL et al., 1995; KOLETTIS et al., 1996; SABA et al., 1997; BECKER et al., 1997; ORTIZ e ARAUJO, 1998; KOSAR, 1999).

Optou-se por utilizar animais na faixa etária entre 35 - 42 dias, vez que após 45 dias se completa a espermatogênese, iniciada 4 - 6 dias após o nascimento (Clermont e Perey *apud* ARAUJO, 1998), adentrando o animal a fase de vida adulta. O éter dietílico foi o anestésico utilizado pela facilidade de uso com um mínimo de equipamento, apesar de suas conhecidas desvantagens: indução de salivação excessiva e irritação do epitélio respiratório. Os procedimentos cirúrgicos foram de curta duração o que minimizou as complicações. A depilação por tração dos pelos foi realizada após a indução da anestesia.

A isquemia testicular experimental pode ser obtida por oclusão da artéria espermática por ligadura, pinçamento ou torção do cordão espermático. Palmer et al., (1997) estudaram diferentes modelos de isquemia testicular experimental em ratos Sprague-Dawley e concluíram, baseados em medições realizadas com o fluxômetro Doppler de raios laser, que o pinçamento do cordão espermático produz, no rato, uma isquemia mais importante que aquela obtida com a torção testicular de 720°.

Optou-se, neste estudo, por utilizar a torção testicular executando duas voltas completas (720°) porque já foi demonstrado que torções de apenas uma volta (360°) não produzem alterações histológicas significativas no testículo contralateral. Janetschek et al., (1987) estudaram os efeitos da torção testicular experimental e

concluíram que torções superiores a 360 produzem efeitos hemodinâmicos similares aos observados em situações clínicas reais.

Ryan et al., (1988) realizaram estudos com diversos modelos de isquemia testicular, com ou sem fixação do testículo após a torção e concluíram que torções de 360°, independentemente do método de fixação testicular, não produziam congestão venosa ou estase vascular. Quando a rotação era aumentada para 720°, seguida da fixação testicular pela aplicação de pontos de sutura no mesórquio, as modificações circulatórias eram significativas, aproximando-se daquelas observadas na torção testicular humana. A fixação transparenquimal do testículo produz alterações semelhantes, mas a passagem da agulha de sutura pelo parênquima, ao propiciar a ruptura de túbulos seminíferos, determina o aparecimento de lesões no testículo contralateral, que podem invalidar os resultados da pesquisa (RYAN et al., 1988).

Rodriguez & Kaplan (1988) realizaram experimentos, usando ratos Sprague-Dawley, na tentativa de encontrar um método ideal de fixação testicular; foram usados a eversão da túnica vaginal, a fixação do testículo com fios absorvíveis ou inabsorvíveis e talco ou tetraciclina para a produção de reação inflamatória. Nenhum dos métodos estudados provou ser adequado para a realização do experimento.

Dixon et al., (1993) estudaram os efeitos da fixação transparenquimal do testículo, em ratos Sprague-Dawley pré-púberes utilizando diferentes fios de sutura e encontraram uma reação inflamatória em todos os casos.

Heindel et al., (1990) demonstraram, experimentalmente, em ratos pré-púberes, que a lesão do testículo contralateral depende do grau de torção do testículo ipsilateral; torções inferiores a 720° não produzem alterações da fertilidade do testículo contralateral.

Becker e Turner (1995) estudaram as alterações endócrinas e exócrinas na TT experimental em ratos Sprague-Dawley pré-púberes, concluindo que torções de 360° não produziam alterações significativas em qualquer dos testículos, independentemente do tempo de duração da isquemia. Por outro lado, quando a TT era de 720°, as lesões do testículo torcido eram significativas, tanto maiores quanto maior fosse a duração da isquemia .

Considerando-se que a perfusão sanguínea do testículo submetido à torção de 720° não retorna após períodos de isquemia superiores a 3 horas (AKGÜR et al.,

1993), realizou-se o experimento observando esse limite de tempo; assim, os períodos de isquemia experimental foram limitados a 1 hora.

As causas da lesão do testículo contralateral na torção unilateral do cordão espermático tem sido objeto de inúmeros estudos, com resultados muitas vezes contraditórios. Várias são as hipóteses para justificar o dano identificado no testículo contralateral:

- *lesão hipóxica*: a diminuição do fluxo sanguíneo no testículo ipsilateral promoveria alteração semelhante no testículo contralateral, levando a hipóxia (SALMAN et al., 1997);
- *lesão imunológica*: o testículo destorcido, sendo preservado, produziria anticorpos antiesperma séricos) que atacariam a gônada contralateral (BARSTCH et al., 1980);
- *lesão parenquimatosa*: a fixação profilática dos testículos, recomendada no tratamento da torção testicular poderia ser responsável pelo aparecimento das lesões testiculares (RYAN et al, 1988) ;
- *lesão pré-existente*: as anormalidades testiculares poderiam existir sem a concomitância de qualquer forma de reação imune e mesmo na ausência de torção unilateral, (HORICA et al, 1982);
- *o dano testicular poderia existir antes do evento, decorrente de anormalidades anatômicas que predis põem à torção*, tais como a inserção alta da túnica vaginal e a fixação central do testículo, conhecido como “*bell clapper*” ou badalo de sino (Abeshouse *apud* SNYDER JR. et al., 1962; DOMINGUEZ et al., 1994);
- *a lesão histológica do testículo contralateral seria conseqüente a mecanismo neurológico* (simpático) através de impulsos nervosos conduzidos pelo nervo geniturinário (TANYEL et al., 1999);
- *as alterações histopatológicas do testículo contralateral seriam decorrentes da peroxidação dos lipídios da membrana celular* produzida pelos metabólitos do tipo superóxidos, peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila, resultantes do metabolismo celular no testículo isquêmico (PRILLAMAN e TURNER, 1997; SARICA et al., 1997).

Akgür et al., (1993) postulam que a redução da perfusão sanguínea, observada durante a torção do cordão espermático pode persistir em ambos os

testículos mesmo após a destorção. Posteriormente, os mesmos autores demonstraram que a TT unilateral determina uma diminuição da perfusão no testículo contralateral; a orquiectomia sub-epididimal não modifica o quadro patológico, sugerindo que o estímulo para essas lesões possa originar-se nos nervos e vasos sanguíneos do cordão espermático (AKGÜR et al., 1995).

Karagüzel et al., (1995) estudaram o efeito da simpatectomia química na torção testicular unilateral, concluindo que o uso de 6-OH-dopamina tem uma ação preventiva, impedindo alterações histológicas no testículo contralateral e atribuíram esse efeito à prevenção da diminuição do fluxo sanguíneo nesse testículo.

Um estudo avaliou o grau de redução do fluxo sanguíneo ocorrido na torção testicular induzida em coelhos. Através da fluxometria Doppler colorida e contrastes imuno-radioativos concluiu que sua redução no testículo ipsilateral, submetido à torções inferiores a 720° não é significativa (FRUSH et al., 1995).

Salman et al., (1997) afirmam que a torção do cordão espermático, em ratos, na ausência do testículo e epidídimo causa hipóxia na gônada contralateral e que o mecanismo parece estar relacionado à presença da artéria testicular, posto que a remoção do testículo e epidídimo não evitam a hipóxia contralateral. Pesquisas adicionais demonstraram a diminuição do fluxo sanguíneo e conteúdo de O₂ no testículo contralateral do rato durante a torção testicular unilateral, o que poderia explicar a ocorrência de lesões testiculares contralaterais (SALMAN et al., 1998). No ano seguinte Andiran et al., (1999) demonstraram que a TT ou obstrução do canal deferente determinam alterações histológicas no testículo contralateral por um mecanismo semelhante (redução do fluxo sanguíneo).

Nguyen et al., (1999) submeteram leitões pré-púberes à torção testicular unilateral (8 horas de isquemia) e encontraram diminuição da perfusão sanguínea no testículo ipsilateral. Após destorção, ocorreu aumento do fluxo sanguíneo em ambos os testículos. As lesões seriam decorrentes desse aumento da perfusão.

Vários autores demonstraram que a atrofia testicular ipsilateral estava ligada ao tempo de torção sugerindo que o dano da função exócrina do testículo estaria relacionado à duração da isquemia e que as lesões do testículo contralateral seriam uma reação auto-imune (BARSTCH et al., 1980; WALLACE et al., 1982; THOMAS et al., 1984). Harrison et al., (1981) afirmam que a simples manipulação do testículo

seria suficiente para causar dano histológico ao testículo contralateral, estimulando a produção de anticorpos.

Mastrogiacomo et al., (1982) analisaram os efeitos da TT em 25 pacientes pós-púberes, verificando que a espermatogênese apresentava significativas alterações nos pacientes onde os testículos torcidos foram preservados, ao contrário daqueles submetidos a orquiectomia, e atribuíram essas alterações a um mecanismo auto-imune.

Nagler e deVere White (1982) realizaram diversos experimentos com ratos Sprague Dawley adultos e concluíram que na torção do cordão espermático com menos de 24 horas de duração, a supressão imunológica (administração peri-operatória de globulina anti-linfocítica + esplenectomia no 3º. dia) impede o aparecimento de alterações histológicas no testículo contralateral.

Merimsky et al., (1984) submeteram 56 ratos à TT experimental e concluíram que quando o testículo era removido após 24 horas, anticorpos antiesperma estavam presentes em 82,7% dos animais cujos testículos foram destorcidos e preservados e em 47% dos ratos submetidos a orquiectomia.

Fraser et al., (1985) pesquisaram a presença de anticorpos em 47 pacientes, 2 a 10 anos pós-torção testicular. Havia alteração da espermatogênese em 77% dos casos; não foram detectados, no entanto, anticorpos antiesperma.

Kearney e Lewis-Jones (1985) demonstraram a presença de anticorpos antiesperma em animais submetidos à TT. O uso de imunossupressores propiciava uma redução das lesões contralaterais.

Puri et al., (1985), estudando 18 pacientes submetidos à cirurgia conservadora para correção de torção testicular aguda no período pré-púbere demonstraram que o testículo viável preservado, mesmo apresentando alto grau de atrofia no decorrer dos anos, não induzia eventos auto-imunes ou distúrbios da fertilidade, 7 a 23 anos mais tarde.

Kogan et al., (1986) estudaram os efeitos da TT em ratos e concluíram que as lesões do testículo contralateral se devem a um mecanismo imunológico, opinião compartilhada por outros pesquisadores (WORKMAN e KOGAN, 1988).

Choi et al., (1993) estudaram o metabolismo celular no testículo contralateral em ratos Sprague-Dawley e concluíram que a torção do cordão espermático afeta o

testículo contralateral por um mecanismo sistêmico, mas não conseguiram explicar sua teoria.

Karagüzel et al., (1994) demonstraram, em estudo experimental, não ser necessária a presença de tecido espermático (testículo torcido) para o aparecimento de alteração histológica no testículo contralateral, sugerindo que o mecanismo da lesão testicular não pode ser atribuído a uma reação auto-imune. Opinião contrária têm Sanjuan Rodriguez et al., (1994), que estudaram os efeitos da torção testicular experimental (24 horas) no rato e concluíram que as alterações do testículo contralateral seriam decorrentes de fenômeno imunológico, opinião compartilhada por Andersen et al., (1995), que examinaram 35 pacientes 6 a 12 anos após cirurgia para correção de torção do cordão espermático e não encontraram indícios de auto-imunização.

Kosar (1999) submeteu 75 ratos Wistar adultos a TT de 720° e identificou anticorpos antiesperma no testículo contralateral 30 dias após a destorção ou orquiectomia do testículo torcido, reforçando assim a teoria imunológica do mecanismo de lesão do testículo contralateral.

Ryan et al., (1988) demonstraram que a fixação transparenquimal do testículo determina o aparecimento de alterações histológicas em ambos os testículos.

O dano testicular poderia ocorrer antes da torção, decorrente de anormalidades anatômicas que predisõem à torção, já perfeitamente conhecidas dos cirurgiões pediatras, tais como a inserção alta da túnica vaginal e a fixação central do testículo, conhecido como badalo de sino, que por serem bilaterais poderiam acarretar episódios isquêmicos transitórios, subclínicos, que promoveriam o dano funcional (Abeshouse et al., *apud* Snyder Jr. et al., 1962).

Horica et al., (1982) verificaram, por microscopia ótica e eletrônica, a existência de testículos displásicos em pacientes com torção unilateral, sem a concomitância de qualquer forma de reação imune.

Hadziselimovic *et al.*, (1986) estudaram, retrospectivamente, as biópsias testiculares de pacientes (8 pré-púberes e 30 adolescentes) que haviam sido operados para correção de torção testicular, metade dos foram submetidos à biópsias bilaterais. A redução do número de espermátides foi observada em ambos

os testículos, levando os pesquisadores a sugerir que essas lesões possam ser preexistentes.

Laor et al., (1990) realizaram uma revisão histológica de 20 biópsias testiculares de pacientes pós-púberes, realizadas por ocasião da cirurgia corretiva para torção testicular unilateral, e encontraram alterações contralaterais em 60% dos casos, afirmando que as lesões seriam preexistentes.

Anderson e Williamson (1990) encontraram casos de dano já estabelecido em ambos os testículos, em muitos pacientes que tinham uma história de episódios de dor e edema escrotais prévios ao episódio da torção aguda; realizando biópsias simultâneas ao tempo da intervenção cirúrgica ficou constatada a existência de lesões testiculares.

Hagen et al., (1992) estudaram a histologia do testículo contralateral de 34 pacientes com torção testicular por ocasião da destorção e após 4 meses, encontrando alterações em 30 deles, por ocasião da primeira intervenção, concluindo que tais alterações eram devidas a uma displasia congênita preexistente.

Dominguez et al., (1994) estudaram biópsias provenientes de pacientes pré-púberes, com história prévia de torção do cordão espermático, 3-7 anos antes da avaliação, apresentando atrofia ipsilateral, e que tiveram seus testículos destorcidos e preservados. As alterações histológicas encontradas foram variadas e inconsistentes, desde hipoplasia tubular mínima ou moderada a hipoplasia da camada germinal. Diante desses achados, os autores atribuíram essas alterações à preexistência de disgenesia gonadal.

Wallace et al., (1982) não conseguiram explicar o mecanismo da lesão mas admitiram que o testículo torcido seria o responsável pela lesão contralateral com um mecanismo semelhante ao observado nas lesões do globo ocular, propondo o nome de “orquidopatia simpática” para o fenômeno. A simpatectomia química evita a elevação dos níveis de ácido láctico e hipoxantina e conseqüentes alterações histológicas no testículo contralateral dos ratos submetidos à TT. As lesões do testículo contralateral seriam então mediadas pelo sistema simpático (KARAGÜZEL et al., 1994).

A determinação da concentração de noradrenalina e de nitrito-nitrato no testículo contralateral de ratos previamente submetidos à torção do cordão espermático por 24 horas, na ausência ou presença do testículo e ou epidídimo

ipsilateral não evidenciou modificações nas concentrações testiculares de nitrito-nitrato sugerindo que essas substâncias não são responsáveis pelo aparecimento de lesões histológicas no testículo contralateral (TANYEL et al., 1999).

Akgür et al., (1994) demonstraram que a destorção testicular após torção experimental com duração de até 2 horas, leva a um aumento significativo da peroxidação lipídica no testículo ipsilateral mas não no testículo contralateral; as lesões encontradas no testículo ipsilateral representam uma somatória dos efeitos da isquemia decorrente da diminuição do fluxo sangüíneo acrescida das lesões causadas pela reperfusão.

Sarica et al., (1997) estudaram a ação dos bloqueadores de radicais livres em ratos Wistar adultos e concluíram que até 2 horas de isquemia não há aumento significativo na atividade enzimática. Após 6 horas, as alterações encontradas no testículo contralateral são mais pronunciadas nos animais submetidos à destorção testicular do que naqueles submetidos a orquiectomia.

Durante a isquemia, a concentração intracelular de adenosina trifosfato (ATP) é reduzida, ocorrendo então um aumento da concentração de adenosina monofosfato (AMP) que é metabolizada, posteriormente, em adenosina, inosina e hipoxantina. Após restabelecimento da circulação sanguínea e conseqüente reoxigenação dos tecidos, o oxigênio molecular reage com a hipoxantina e a xantina oxidase, produzindo metabólitos extremamente citotóxicos: superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila (MCCORD, 1985).

Na vigência da isquemia, alguns tecidos animais não conseguem oxidar o piruvato formado pela glicólise devido a falta de oxigênio, sendo então reduzido a lactato. O processo é conhecido como glicólise anaeróbica e é uma importante fonte de ATP (LEHNINGER, 1984).

Quando o tecido é privado de oxigênio, há inibição no transporte de elétrons vez que a reação de fosforilação que ocorre ao nível das mitocôndrias necessita de suprimento constante de O_2 para ocorrer normalmente. O resultado é um declínio nos níveis tissulares de ATP. Na tentativa de manutenção das funções celulares, o metabolismo anaeróbico da glicose (glicólise) é ativado. Ocorre então uma rápida depleção dos níveis de glicogênio, resultando em aumento do ácido láctico e redução do pH intracelular. Alguns tecidos, tais como a medula dos rins e os testículos apresentam um teor reduzido de mitocôndrias nas suas células e

dependem quase que exclusivamente da glicólise anaeróbica para a produção de ATP. A medida que o nível de glicose sanguínea é reduzido, em decorrência do bloqueio circulatório, imposto pela torção do cordão espermático, há uma diminuição do nível de ATP devido a redução da glicólise. Por outro lado, com aumento da oferta de sangue oxigenado, pela destorção do testículo, o nível de ATP deve aumentar, retornando aos seus valores normais (OLSON, 1997).

Turrens et al. (1991) estudaram os efeitos da reperfusão das células cardíacas do rato previamente submetido à isquemia e demonstraram que há uma inibição específica na cadeia transportadora de elétrons com incapacidade de produção de ATP, concluindo que a reperfusão de um órgão previamente submetido à isquemia determina graves lesões mitocondriais, incluindo edema e depósito de cristais de hidroxiapatita na matriz mitocondrial. Assim, a gravidade da lesão poderia comprometer a produção de ATP.

Os efeitos negativos da torção testicular sobre o metabolismo tissular foram objeto de inúmeros estudos. Pesquisas comprovaram que os testes metabólicos são mais sensíveis que os estudos histológicos na avaliação das lesões do testículo contralateral, em decorrência de isquemia testicular unilateral. Estudos metabólicos comprovaram a existência de peroxidação lipídica, confirmada pela presença de indicadores bioquímicos do estresse oxidativo, no testículo contralateral, demonstrando que as alterações metabólicas refletem com maior brevidade e fidelidade a existência de lesões no testículo contralateral que as tradicionais técnicas de investigação histológica (SALMAN et al., 1997; KOLLETIS et al., 1996).

A compreensão do significado de um ensaio enzimático é fundamental para a correta interpretação dos resultados. O método baseia-se na especificidade da reação enzimática, com cada tipo de substrato. Ao término da reação ocorre a redução de NAD^+/NADP ou a oxidação de NADH/NADPH . Os nucleotídeos piridina (NAD^+ , NADP) absorvem a luz a 260 nm, no seu estado normal, mas no estado reduzido este valor aumenta para 340 nm. Utilizando-se este valor para a medida da densidade óptica, pode-se acompanhar diretamente o processo de conversão enzimática do substrato em uma cubeta, pela leitura do espectrofotômetro. Assim, independentemente da aceitação de H^+ pelo NAD^+ ou a doação de H^+ pelo NADH , a densidade óptica aumenta ou diminui em 6,22 unidades com a produção ou consumo de um micromol de NADH/NADPH .

Sabendo-se que um micromol de substrato reage com um micromol de NAD⁺/NADP (ou NADH/NADPH), no curso de uma reação enzimática específica, pode-se afirmar que a mudança na densidade óptica reflete rigorosamente a quantidade de substrato consumida pela reação. A conversão do substrato é praticamente completa, observadas as condições adequadas ao ensaio. Nessas circunstâncias, a diferença de densidade óptica pode ser usada para calcular a concentração do substrato no tecido ou no sangue, após a correção pelo fator de diluição apropriado. A especificidade do ensaio enzimático depende a pureza da enzima, enquanto que a precisão é dependente das condições da realização do ensaio. A sensibilidade do ensaio enzimático, traduzida por mudanças mensuráveis da densidade óptica, está diretamente relacionada ao grau de conversão de NAD⁺/NADP em NADH/NADPH ou vice-versa.

No presente estudo, a queda significativa da concentração de glicose ($p < 0,05$) nos testículos direitos dos ratos submetidos à isquemia de 60 minutos de duração (torção de 720°) em relação às concentrações de glicose aferidas nos testículos direitos dos ratos submetidos à operação simulada (torção seguida de destorção) mostrou que a isquemia induziu diminuição na captação de glicose ($0,211 \pm 0,09 \mu\text{mol/g}$ *versus* $2,257 \pm 0,13 \mu\text{mol/g}$) no tempo 0 h. Isto sugere que a torção testicular de 720° induz restrições no fluxo sanguíneo destinado ao testículo torcido, produzindo graves alterações no metabolismo oxidativo da glicose, durante a fase de isquemia. A ausência de diferenças significantes, com concentrações similares de glicose 30 minutos após a destorção (TABELA 1, FIGURA 8) sugere pronta recuperação do metabolismo oxidativo da glicose com a normalização da oferta de sangue oxigenado ao testículo destorcido.

O aumento progressivo da concentração de glicose nos testículos dos ratos submetidos à isquemia, durante o período de reperfusão, sugere recuperação progressiva na capacidade de captar glicose pelo tecido previamente submetido à isquemia, uma hora após o início da reperfusão. Embora o tempo 6 h mostre valores estatisticamente semelhantes de glicose em comparação aos valores aferidos no tempo 0 h, nota-se uma tendência de aumento das concentrações de glicose durante a reperfusão ($0,211 \pm 0,09 \mu\text{mol/g}$ *versus* $1,175 \pm 0,19 \mu\text{mol/g}$), com valores significativamente maiores ($p < 0,05$) no tempo 24 h (TABELA 1, FIGURA 8). Estas

diferenças estão provavelmente relacionadas com as alterações do fluxo sanguíneo no período pós-isquêmico.

Tanyel et al., (1989) demonstraram que a torção testicular induzia uma diminuição súbita do fluxo sanguíneo nos testículos de coelhos adultos submetidos à torção/destorção unilateral. Após a destorção o retorno da perfusão, era lento e gradativo.

Turner e Brown (1993) submeteram ratos adultos à torção testicular (720°), produzindo uma redução de 94% no fluxo sanguíneo do testículo ipsilateral.

Neste estudo, a redução significativa ($p < 0,05$) da concentração de glicose nos testículos direitos (isquemiados) dos ratos do Grupo 2, em comparação as concentrações de glicose nos testículos esquerdos (controle) dos mesmos animais resulta, possivelmente, da diminuição da captação de glicose no tempo 0 h ($0,211 \pm 0,09 \mu\text{mol/g}$ versus $0,906 \pm 0,11 \mu\text{mol/g}$) pelos testículos submetidos à isquemia (TABELA 2, FIGURA 9).

Pesquisadores demonstraram que após 2 horas de isquemia, nos ratos submetidos à TT de 720°, a redução do fluxo sanguíneo na artéria espermática do testículo contralateral pode ser superior a 40% (KOLETTIS et al., 1996).

A ausência de alterações nas concentrações de glicose no testículo esquerdo (contralateral) dos animais do Grupo 2 (Isquemia) poderia ser explicada pelo curto tempo de isquemia utilizado no experimento vez que tais lesões foram encontradas por outros pesquisadores somente após 3 horas de isquemia (SALMAN et al, 1998).

O aumento significativo ($p < 0,05$) da concentração de glicose ($2,257 \pm 0,13 \mu\text{mol/g}$) no testículo direito (submetido à operação simulada) no período pós-trauma imediato (60 minutos após a torção/destorção), em comparação à concentração de glicose no testículo esquerdo (TABELA 3, FIGURA 10) do mesmo animal ($0,832 \pm 0,14 \mu\text{mol/g}$) mostra que o trauma sem isquemia (Operação Simulada) induz aumento da demanda energética do testículo manipulado com conseqüente aumento da captação da glicose (efeito trauma).

Harrison et al., (1981) demonstraram que a simples manipulação do testículo ipsilateral ensejava o aparecimento de lesões no testículo contralateral. A presença destas lesões estaria relacionada a um mecanismo imunológico.

O aumento significativo ($p < 0,05$) da concentração de glicose ($1,872 \pm 0,49 \mu\text{mol/g}$) no testículo direito (Operação Simulada - TABELA 3, FIGURA 10) quando

comparada à concentração de glicose no testículo esquerdo ($1,250 \pm 0,25 \mu\text{mol/g}$) no tempo 24 h sugere que o trauma induzido pela exposição e manuseio do testículo direito, na operação simulada, pode estimular a captação de glicose pelo tecido testicular e que esse efeito perdura, pelo menos, por 24 horas.

Melikoglu et al, (1992) estudaram o fluxo sanguíneo na torção testicular experimental, com a utilização da injeção intratesticular de Xenon -133, encontrando aumento desse fluxo no testículo contralateral, 15 dias após a torção, em ratos albinos submetidos à isquemia por 3 horas.

A queda significativa (TABELA 1, FIGURA 8) da concentração de glicose durante a reperfusão, no testículo direito dos animais submetidos à operação simulada, comparando-se as concentrações de glicose no tempo 0h (imediatamente após 60 minutos do trauma) com os tempos 0,5 h ($2,257 \pm 0,13 \mu\text{mol/g}$ versus $0,759 \pm 0,16 \mu\text{mol/g}$ – $p < 0,01$) e 6 h ($2,257 \pm 0,13 \mu\text{mol/g}$ versus $0,897 \pm 0,05 \mu\text{mol/g}$ – $p < 0,01$) e a ausência de diferenças significantes entre as concentrações de glicose nos tempos 0 h e 24 h sugerem que a lesão tissular imposta pela operação simulada é reversível e de lenta recuperação.

A ausência de diferenças significantes na concentração de glicose no testículo contralateral (esquerdo) dos animais submetidos à isquemia e operação simulada (TABELA 4, FIGURA 11), nos tempos estudados (0,5 h; 1 h; 6 h; 24 h) quando comparada à concentração do substrato no tempo 0 h, sugere que a isquemia do testículo não induz alterações metabólicas no testículo contralateral, quando o tempo de isquemia é muito curto (1 hora, no presente estudo). Estes achados são semelhantes aos apresentados por outros pesquisadores (CHOI et al., 1993).

Choi et al., (1993) demonstraram que os testículos contralaterais de ratos submetidos à isquemia testicular de curta duração (menos de 3 horas) não apresentam alterações no seu metabolismo energético.

Taxas de glicose (glicemia) semelhantes em ambos os grupos estudados demonstram que a torção testicular ou a manipulação do testículo (Operação Simulada) não induzem alterações na glicemia, ao contrário do que acontece na isquemia hepática, segundo Garcia (1994), que demonstrou a ocorrência de elevação significativa na glicemia de ratos adultos após uma hora de isquemia hepática normotérmica. (TABELA 5, FIGURA 12)

A diminuição estatisticamente significativa ($p < 0,05$) da concentração de ATP ($0,033 \pm 0,02 \mu\text{mol/g}$ versus $0,120 \pm 0,03 \mu\text{mol/g}$) no testículo direito dos ratos submetidos à isquemia de 60 minutos de duração (torção testicular de 720°) em comparação às concentrações de ATP nos testículos direitos dos ratos submetidos à operação simulada (torção seguida de destorção), no tempo 0 h, demonstra que a isquemia induz graves alterações no metabolismo. (TABELA 6, FIGURA 13), diminuindo a captação tissular de glicose e a respiração celular com queda significativa da produção de ATP.

A diminuição da oferta de oxigênio ao tecido testicular obriga a gônada a buscar energia para sua manutenção via glicólise anaeróbica. A redução da oferta de glicose, imposta pela diminuição da captação deste substrato em decorrência da isquemia resultante da torção testicular, explicaria a queda da concentração de ATP no testículo direito. Concentrações similares de ATP em ambos os testículos, a partir de 0,5h após o início da reperfusão sugerem normalização da capacidade de produção de energia pelo testículo (TABELA 6, FIGURA 13).

Neste estudo, a inexistência de diferenças significantes na concentração de ATP no testículo esquerdo dos ratos submetidos à isquemia testicular por torção do testículo direito (TABELA 7, FIGURA 14), quando comparadas às concentrações de ATP nos testículos direitos durante a reperfusão (tempos 0,5 h, 1 h, 6 h e 24 h) poderia ser explicada pelo reduzido tempo de isquemia (apenas uma hora) do testículo ipsilateral (direito).

Choi et al., (1993) estudaram as alterações do metabolismo celular no testículo contralateral de ratos Sprague-Dawley com 9 semanas de idade (42 dias) submetidos à torção testicular unilateral (3, 8 e 24 horas de isquemia). Os animais foram avaliados em 3 momentos diferentes (0 h, 4 h e 14 dias após a destorção). As análises das concentrações de ATP foram realizadas por cromatografia. Não foram encontradas diferenças significantes na concentração de ATP no testículo contralateral dos animais submetidos à isquemia de 3 horas de duração, quando comparada ao respectivo controle. O prolongamento do tempo de isquemia (8 e 24 horas) produziu uma redução significativa das concentrações de ATP no testículo contralateral.

A ausência de diferenças significantes (TABELA 7, FIGURA 14) na concentração de ATP, comparando-se o testículo direito ao esquerdo dos ratos do

Grupo 2 (Isquemia) e nos ratos do Grupo 1 (Operação Simulada – TABELA 8, FIGURA 15) sugere que as alterações isquêmicas do testículo ipsilateral (direito) não induzem modificações no metabolismo do ATP no testículo contralateral (esquerdo), nos animais submetidos à isquemia unilateral de apenas 1 h de duração ou a manipulação (torção seguida por destorção imediata). Resultado semelhante foi apresentado por Akgür et al., (1993), estudando os efeitos da torção unilateral (720°, 1 hora de isquemia) em ratos albinos adultos. Esses pesquisadores encontraram aumento significativo dos produtos da peroxidação lipídica no testículo ipsilateral e ausência de alterações no testículo contralateral.

Saba et al (1997) estudaram as lesões decorrentes da isquemia testicular por torção unilateral do testículo em ratos pré-púberes e encontraram alterações morfológicas progressivas, tempo-dependentes, no testículo ipsilateral dos ratos após 1 ou 2 horas de isquemia; a destorção do testículo propiciava alterações mais significativas no testículo ipsilateral mas não exercia nenhum efeito sobre o testículo contralateral, nos estudos histológicos realizados. Os estudos metabólicos realizados pelos mesmos pesquisadores comprovaram a existência de peroxidação lipídica, no testículo contralateral, sugerindo que esse último método é mais sensível e permite identificar a existência de lesões testiculares contralaterais na isquemia unilateral, com maior acurácia. (SABA et al., 1997)

A ausência de alterações significantes na concentração de ATP no testículo isquemiado, nos diversos tempos de reperfusão pode ser decorrente de lesão celular irreversível imposta pela isquemia de uma hora de duração. (TABELA 6, FIGURA 13)

A ausência de alterações significantes na concentração de ATP nos animais do Grupo 1, no período pós manipulação cirúrgica, diferentemente do que foi demonstrado com relação à concentração de glicose, pode ser decorrente de lesão celular imposta pelo manuseio do testículo. (TABELA 8, FIGURA 15)

A ausência de diferenças significantes entre as concentrações de ATP ao término do período de isquemia ou 60 minutos após a realização da operação simulada em comparação aos valores aferidos nos diversos tempos estudados (0,5 h; 1 h; 6 h; 24 h) mostra que a isquemia de 60 minutos ou o simples manuseio dos testículos pode induzir alterações metabólicas severas, com repercussão negativa

na produção de ATP, vez que esses valores permanecem estáveis durante o período pós-trauma (Grupo 1) ou a reperfusão (Grupo 2). (TABELA 8, FIGURA 15)

A isquemia de curta duração (60 minutos) ou o simples manuseio dos testículos não parece ser suficiente para induzir alterações nas concentrações de ATP nos testículos contralaterais (TABELA 9, FIGURA 16) dos animais do Grupo 1 (Isquemia) na fase de reperfusão e no período pós-trauma (Operação Simulada) nos animais do Grupo 2.

Em resumo, os resultados evidenciaram que a torção testicular de 720° é capaz de produzir graves restrições ao fluxo sanguíneo do testículo torcido. Por outro lado a isquemia de apenas uma hora de duração pareceu ser insuficiente para produzir repercussões sobre o metabolismo do testículo contralateral. Ficou evidente o efeito trauma, mostrando que o testículo é uma estrutura muito sensível e que deve ser manuseada com extremo cuidado. A capacidade de recuperação progressiva do testículo isquemiado foi evidenciada, justificando a conduta cirúrgica de preservação do testículo, na isquemia de curta duração.

Um futuro trabalho poderia avaliar com maior detalhamento as repercussões temporais da isquemia e os limites entre a lesão metabólica recuperável e a lesão irreversível, quando a remoção cirúrgica do testículo torcido estaria indicada.

6. CONCLUSÕES

1. A torção testicular de 720° induz restrições no fluxo sanguíneo, produzindo graves alterações no metabolismo oxidativo da glicose.
2. A torção unilateral de 720°, do cordão espermático de ratos Wistar, por uma hora, induz uma redução da concentração tissular de ATP e de glicose no testículo ipsilateral, *in vivo*.
3. Na reperusão, ocorre uma recuperação progressiva da capacidade de captação de glicose e normalização da produção de energia pelo testículo submetido à isquemia.
4. A isquemia por torção testicular unilateral de 720°, por uma hora, em ratos Wistar, não induz alterações metabólicas no testículo contralateral.
5. A isquemia por torção testicular unilateral de 720°, por uma hora ou a simples manipulação cirúrgica do testículo (operação simulada), em ratos Wistar, não induzem alterações na glicemia.
6. O manuseio cirúrgico do testículo do rato Wistar produz aumento da concentração de glicose tissular no testículo manipulado.

6 . REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABESHOUSE, B. S., et al. *apud* SNYDER, W. JR; BRAYTON, D.; GREANEY JR, E. M. Torsion of the Testis. In:_____. MUSTARD, W. T., RAVITCH, M. M.,
- SNYDER JR, W., WELCH, K. J., BENSON, C. D. **Pediatric Surgery**. 2. Ed. Chicago: Year Book Medical Publishers Inc, 1962. v. 2, cap.77, p.1287-91.
- AKGÜR, F. M.; KILINC, K.; AKTUG, T. Reperfusion injury following testicular torsion and detorsion in prepuberal rats. **Urol. Res.**, v. 21, n. 6, p. 389-93, 1993.
- AKGÜR, F. M.; KILINC, K.; AKTUG, T. Is ipsilateral testis mandatory for the occurrence of contralateral intratesticular biochemical changes indicative of hypoxia after unilateral spermatic cord torsion? **Eur. Urol.**, v. 28 n .2, p. 143146, 1995.
- AKGÜR, F. M.; KILINC, K.; TANYEL, F. C.; BÜYÜKPAMUKCU, N.; HICSÖNMEZ, A. Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. **Urology**, v. 44, n. 3, p. 413-18, 1994.
- AL SALEM, A. H. Intra-uterine testicular torsion: early diagnosis and treatment. **B.J.U. Internat.**, v. 83, n. 9, p. 1023-5, 1999.
- ANDERSEN, L.; BRASSO, K.; KAY, L.; WILLE-JORGENSEN, P. A. Senfølger efter torsio testis. **Ueskr Laeger**, v.157, n. 9, p. 170-172, 1995.
- ANDERSON, J. B.; WILLIAMSON, R. C. Testicular torsion in Bristol: a 25 year review. **Br. J. Surg**, v. 75, n. 10, p. 988-92, 1988.
- ANDERSON, J. B; WILLIAMSON, R. C. Fertility after torsion of the spermatic cord. **Br. J. Urol.**, v. 65, n.3, p. 225-30, 1990.
- ANDERSON, M. J.; DUNN, J. K.; LIPSHULTZ, L. I.; COBURN, M. Semen quality and endocrine parameters after acute testicular torsion. **J. Urol.**, v. 147, n. 6, p. 1545-50, 1992.
- ANDIRAN, F.; OKGUR, D. H.; KILING, A.; GEDIKOGLU, G.; KILING, K.; TANYEL, F. C. Do experimentally induced ipsilateral testicular torsion, vas deferens obstruction, intra-abdominal testis or venous obstruction damage through a common mechanism? **B.J.U. Internat.**, v. 85, p. 330,-335, 1999.
- ARAUJO, J. E. **Efeitos da torção do cordão espermático sobre os parâmetros seminais do testículo contralateral em ratos pré-puberais**. 1998. 56f. Dissertação (Mestrado) - Escola Paulista de Medicina / Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

BAKER, L. A.; SIGMAN, D.; MATHEWS, R. I.; BENSON J.; DOCIMO, S. G. An analysis of clinical outcomes using color Doppler testicular ultrasound for testicular torsion. **Pediatrics**, v. 105, n. 3, p. 604-607, 2000.

BARADA, J.H., WEINGARTEN, J.L., CROMIE, W.J. Testicular salvage and age related delay in the presentation of testicular torsion. **Journ Urol.**, v. 142, n.3, p. 746-8, 1989.

BARTSCH G.; FRANK S. T.; MARBERGER, H.; MICUZ, G. Testicular torsion: late results with special regard to fertility and endocrine function. **J. Urol.**, v.124, n.3, p. 375-278, 1980.

BAUD, C.; VEYRAC, C.; COUTURE, A.; FERRAN, J. L. Spiral twist of the spermatic cord: a reliable sign of testicular torsion. **Pediatr. Radiology**, v. 28, n. 12, p. 950-954, 1998.

BEASLEY, S. W. The acutely painful scrotum in children: how to avoid the traps in diagnosis. **N. Z. Med. J.**, v. 112, n. 1097, p. 375-6, 1999.

BECKER JR., E. J.; TURNER, T. T. Endocrine and exocrine effects of testicular torsion in the prepubertal and adult rat. **J. Androl.**, v. 16, n. 4, p. 342-51, 1995.

BLANK, M. L.; O'NEILL, P. J.; STEIGMAN C. K.; COBB L. M.; WILDE R. A.; HAVENSTEIN P. J.; CHAUDRY I. H. Reperfusion injury following testicular torsion and detorsion in prepubertal rats. **Urol. Res.**, v. 21, n. 6, p. 389-93, 1993.

BURTON, J.A. Atrophy following testicular torsion. **Br J Surg**. 1972 v. 59, n.6, p. 422-6, 1972.

CERASARO, T. S.; NACHTSHEIM, D. A.; OTERO, F.; PARSONS, C. L. The effect of testicular torsion on contralateral testis and the production of antisperm antibodies in rabbits. **J. Urol.**, v. 132, n.3, p. 577-9, 1984.

CHOI, H.; CHOO, M. S.; KIM, K. M.; KIM, W. H.; LEE, Y. S.; CHUNG, M. H. The alterations of cellular metabolism in the contralateral testis following spermatic cord torsion in rats. **J. Urol.**, v. 150, n. (2 Pt 2), p. 577-80, 1993.

CLERMONT, Y. e PEREY, B. Q, *apud* ARAUJO, J. E. **Efeitos da torção do cordão espermático sobre os parâmetros seminais do testículo contralateral em ratos pré-puberais**. 1998. 56f. Dissertação (Mestrado) - Escola Paulista de Medicina / Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

COSENTINO M. J.; NISHIDA, M.; RABINOWITZ, R.; COCKETT, A. T.K. Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. **J. Urol.**, v. 133, n. 5, p. 906-11, 1985.

COSENTINO M. J.; NISHIDA, M.; RABINOWITZ, R.; COCKETT, A. T. Histopathology of Prepubertal Rat Testes Subjected to Various Durations of Spermatic Cord Torsion. **J. Androl.**, v. 7, n.1, p. 23-31, 1986.

COSENTINO, M.; J.; RABINOWITZ, R.; VALVO, J. R.; COCKETT, A. T. The effect of prepuberal spermatic cord torsion and subsequent fertility in rats. **J. Androl.**, v. 5, n. 2, p. 93-8, 1984.

COSTABILE, R. A.; CHOYKE, P. L.; FRANK, J. A.; GIRTON, M. E.; DIGGS, R.; BILLUPS, K. L.; MOONEN, C.; DESJARDINS, C. Dynamic enhanced magnetic resonance imaging of testicular perfusion in the rat. **J. Urol.**, v. 149, n. 5, p. 1195-7, 1993.

CURRIE, B. G., KERN, I. B., HAGAN, B. E. Torsion of the testis. **Med. J. Australia**, v. 151, p. 568-74, 1989.

DAS, S.; SINGER, A. Controversies of perinatal torsion of the spermatic cord: a review, survey and recommendations. **J. Urol.**, v. 143, n. 2, p. 231-233, 1990.

DELASIAUVE, L. J. F. *apud* SNYDER, W. JR.; BRAYTON, D.; GREANEY JR, E. M. Torsion of the Testis. In: _____. MUSTARD, W. T.; RAVITCH, M. M.; SNYDER JR, W.; WELCH, K. J.; BENSON, C. D. (Eds.) **Pediatric Surgery**. 2. Ed. Chicago: Year Book Medical Publishers Inc, 1962. v. 2, cap.77, p.1287-91.

DIXON T. K., RITCHEY, M. L., BOYKIN, W., HARPER, B., ZEIDMAN, E., THOMPSON, I. M. Transparenchymal suture fixation and testicular histology in a prepuberal rat model. **J. Urol.**, v. 149, n. 5, p. 1116-8, 1993.

DOMINGUEZ, C.; VERDUCH, M. M.; ESTORNELL, F.; GARCIA, F.; HERNANDEZ, M.; GARCIA-IBARRA, F. Histological study in contralateral testis of prepuberal children following testicular torsion. **Eur.Urol.**, v. 26, n. 2, p.160-3, 1994.

DUBOIS, R.; DODAT, H. Acute scrotum in the child. **Arch. Pediatr.**, v. 5, n. 8, p. 916-922, 1998.

FEHER, J.; COSMOS, G.; VERECKEI, A. *apud* AKGÜR, F. M.; KILINC, K.; AKTÜG, T. Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. **Urol. Res.**, v. 21, p. 395-99, 1993.

FESTING, M. F. W. Suitability of the rat for different investigations. In: ALTMAN, P. I.; KATZ, D. D. (Eds.)- Inbred and genetically defined strains of laboratory animals, mouse and rat. Bethesda, **Fed. Am. Soc. Exp. Biol.**, v. 1, p. 237-238, 1979.

FRASER, I.; SLATER, N.; TATE, C.; SMART, J. G. Testicular torsion does not cause autoimmunization in man. **Br. J. Urol.**, v. 72, n. 3, p. 237-8, 1985.

FISCHMAN, A. J.; AHMAD, M.; CHHEDA, H.; PETO, C. A.; WILKINSON, R.; STRAUSS, H. W. Reliability of radionuclide scintigraphy for detection of testicular torsion: an animal study. **Eur. J. Nucl. Med.**, v.16, n. 8-10, p. 657-661, 1990.

FRUSH, D. P.; BABCOCK, D. S.; LEWIS, A. G.; PALTIEL, H. J.; RUPICH, R.; SHELDON, C. A. - Comparison of color Doppler sonography and radionuclide imaging in different degrees of torsion in rabbit testes. **Acad. Radiol.**, v. 2, n. 11, p. 945-51, 1995.

GABRIEL, E; PAN, S. S. Afecções agudas da bolsa escrotal. **Clínica Pediátrica** v.11/12, p. 6-27, 1983.

GARCIA, J. H. P. **Alterações metabólicas induzidas por isquemia hepática normotérmica experimental**. 1994. 36f. Universidade Federal do Ceará /Centro de Ciências da Saúde / Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Dissertação (Mestrado) Fortaleza.

GAUSCHE , M. Genitourinary surgical emergencies. **Ped. Ann.**, v. 25, n.8, p. 458-64, 1996.

GESINO, A. E. Torsión testicular post-fijación: confiabilidad de los procedimientos de fijación: una nueva técnica. **C.M. Pub. Méd.**, v. 8, n. 1, p. 3-9, 1995.

GIANNAKOPOULOS, X.; CHAMBILOMATIS, P.; FILIADIS, I.; NTOURNTOUFI, A.; ANDRONIKOU, S.;KAMMENOS, A. Six cases of prenatal and neonatal torsion of the spermatic cord. **Int .J. Urol.** , v. 4, n. 3, p. 324-6, 1997.

GIANNAKOPOULOS, X.; ZIKOPOULOS, C.; NTOURNTOUFI, A.; ANDRONIKOU, S. Intrauterine unilateral torsion of the spermatic cord. **Minerva Urol. Nefrol.**, v. 47, n. 2, p. 95-96, 1995.

GOTO, A. Histological and immunohistochemical studies on the damage of contralateral testis following the unilateral testicular torsion in Wistar rats. **Jap. J. Urol.** (Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi), v. 82, n. 5, p. 726-733, 1991.

GUICE, C. E. *apud* SNYDER, W. JR.; BRAYTON, D.; GREANEY JR, E. M. Torsion of the Testis. In: _____. MUSTARD, W. T.; RAVITCH, M. M., SNYDER JR, W.; WELCH, K. J.; BENSON, C. D. **Pediatric Surgery**. 2. Ed. Chicago: Year Book Medical Publishers Inc, 1962. v. 2, cap.77, p.1287-91.

HADZISELIMOVIC, F.; SNYDER, H.; DUCKETT, J.; HOWARDS, S. Testicular histology in children with unilateral testicular torsion. **J. Urol.**, v. 136 n.1 (Pt 2), p. 208-10, 1986.

HAGEN, P.; BUCHHOLZ, M.M.; EIGENMANN, J.; BANDHAUER, K. Testicular dysplasia causing disturbance of spermiogenesis in patients with unilateral torsion of the testis. **Urol. Int.**, v. 49, n. 3, p.154-7, 1992.

HARRIS, R. A. Carbohydrate Metabolism I: Major metabolic pathways and their control. In: DEVLIN. T. M. (Ed.). **Textbook of biochemistry with clinical correlations**. 4th ed. New York: Wiley-Liss, 1997, cap. 7, p. 267-333.

HARRISON, R. G.; OETTLÉ A. G. apud COSENTINO M. J.; NISHIDA M., RABINOWITZ, R., COCKETT, A. T. K. Histopathology of Prepubertal Rat Testes Subjected to Various Durations of Spermatic Cord Torsion. **J. Androl.**, v. 7, p. 23-31, 1986.

HARRISON, R. G., LEWIS-JONES, D. I., MARVAL, M. J. M., CONNOLY, R. C. Mechanism of damage to the contralateral testis in rats with an ischaemic testis. **Lancet**, v. 2, p. 273-5, 1981.

HASTIE, K. J; CHARLTON, C. A. - Indications for conservative management of acute scrotal pain in children. **Br. J. Surg.**, v. 77 n. 3, p. 309-11, 1990.

HEINDEL, R. M.; PAKYZ, R. E.; REINKING, L. N.; COSENTINO, M. J. The effect of various degrees of unilateral spermatic cord torsion on fertility in the rat. **J.Urol.**, v. 144, n.(2 Pt 1), p. 366-9, 1990.

HOHORST apud VASCONCELOS, P. R. L. **Hepatic metabolism during sepsis.**, 1987. 55f. Tese (Doctor of Philosophy) - University Oxford, Oxford.

HORICA, C.A.; HADZISELIMOVIC, F.; KREUTZ, G.; BANDHAUER, K. Ultrastructural studies of the contorted and contralateral , testicle in unilateral testicular torsion. **Eur. Urol.**, v. 8, n. 6, p. 358-62, 1982.

JANETSCHEK, G.; SCHRECKENBERG, F.; GRIMM, W.; MARBERGER, M. Hemodynamic effects of experimental testicular torsion. **Urol. Res.**, v. 15, n. 5, p. 303-6, 1987.

JANETSCHEK, G.; SCHRECKENBERG, F.; MIKUZ, G.; MARBERGER, M. Experimental testicular torsion: effect on endocrine and exocrine function and contralateral testicular histology. **Urol. Res.**, v. 16, n. 1, p. 43-7, 1988.

JHUNJHUNWALA, J. S.; SINHA HIKIM, A. P.; BUDD, C. A.; CHAKRABORTY, J. Germcell degeneration in the contralateral testis of guinea pig with unilateral torsion of the spermatic cord. **J. Androl.**, v. 7. n. 1, p. 16-22, 1986.

KAGAN, V. E. apud AKGÜR, F. M.; KILINÇ, K.; AKTÜG, T. - Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. **Urol. Res.**, v. 21, p. 395-99, 1993.

KAMADA, K.; TAKIHARA, H.; SHIRATAKI, S.; ISHIZU, K.; BABA, Y.; NAITO, K. Flow cytometric DNA analysis demonstrates contralateral testicular deterioration in experimental unilateral testicular torsion of prepubertal rats. **Androl.**, v. 25, n. 2, p.239-44, 1993.

KARAGÜZEL, G.; GEDIKÖĞLU, G.; TANYEL, F. C.; BÜYÜKPAMUKCU, N.; HICSÖNMEZ, A. Subsequent biological effects of chemical sympathectomy in rats undergoing unilateral testicular torsion. **Eur. Urol.**, v. 28, n. 2, p. 147-51, 1995.

KARAGÜZEL, G., TANYEL, F. C., KLININC, K., BÜYÜKPAMUKCU, N., HICSÖNMEZ, A. The preventive role of chemical sympathectomy on contralateral hypoxic parameters encountered during unilateral testicular torsion. **Br. J. Urol.**, v. 74, n. 4, p. 507-10, 1994.

KEARNEY, S. E.; LEWIS-JONES, D. I. Effect of ACTH on contralateral testicular damage and cytotoxic antisperm antibodies after unilateral testicular ischaemia in the rat. **J. Reprod. Fertil.**, v. 75, n. 2, p. 531-535, 1985.

KOGAN, S.; OWENS, G.; TARTER, T.; NEHLSSEN-CANNARELLA, S.; BENNETT, B.; GILL, B.; LEVITT, S. Mechanisms of injury in unilateral testis torsion. **Eur. Urol.**, v. 12, n. 3, p. 184-6, 1986.

KOLETTIS, P. N.; STOWE, N. T.; INMAN, S. R.; THOMAS JR., A. J. Acute spermatic cord torsion alters the microcirculation of the contralateral testis. **J. Urol.**, v. 155, n. 1, p. 350-4, 1996.

KOSAR, A. Immunologic aspect of testicular torsion: detection of antisperm antibodies in contralateral testis. **Eur. Urol.**, v. 36, n. 6, p. 640-44, 1999.

KRARUP, T. The testis after torsion. **Br. J. Urol.**, v. 50, n. 1, p. 43-6, 1978.

LAMPRECHT, W.; TRAUTSCHOLD, I. Determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. In: BERGMAYER, H. U. (Ed). **Methods of enzymatic analysis**, London: Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press; 1963. p. 543-551.

LAOR, E.; FISCH, H.; TENNENBAUM, S.; SESTERHENN, I.; MOSTOFI, K.; REID, R. E. Unilateral testicular torsion: abnormal findings in the contralateral testis - cause or effect? **Br. J. Urol.**, v. 65, n. 5, p. 520-523, 1990.

LEHNINGER, A. L. Glicólise: a via central do catabolismo da glicose. In: **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1984, cap. 15, p.288-310.

LIEVANO, G.; NGUYEN, L.; RADHAKRISHNAN, J.; FORNELL, L.; JOHN, E. New model to evaluate testicular blood flow during testicular torsion. **J. Pediatr. Surg.**, v. 34, n. 6, p. 1004-1006, 1999.

LONGINO, L. A.; MARTIN, L. W. *apud* SNYDER, W. JR., BRAYTON, D.; GREANEY JR, E. M. Torsion of the Testis. In: _____. MUSTARD, W. T.; RAVITCH, M. M.; SNYDER JR, W.; WELCH, K. J.; BENSON, C. D. **Pediatric Surgery**. 2. Ed. Chicago: Year Book Medical Publishers Inc, 1962. v. 2, cap.77, p. 1287-91.

LONGO, V.J. Torsion of the testis: a new twist. **Urology**, v.12, n. 6, p.743, 1978.

LUDWIG, G.; HASELBERGER, J.; KAGELMACHER, B. Fertilität nach ein- und beidseitiger experimenteller Samenstrangtorsion. **Urologe [A]**, v. 19, n. 5, p. 303-5, 1980.

MADARIKAN, B.A. - Testicular savage following spermatic cord torsion. **J. Pediatr. Surg.**, v. 22, n. 3, p. 231-4, 1987.

MADGAR, I.; LUNENFELD, B.; MASHIACH, S.; GOLDWASSER, B.; WEISSENBERG, R. Effect of testicular torsion on contralateral testis and fertility in mature rats. **Arch. Androl.**, v. 19, n. 3, p. 237-241, 1987.

MARKLEY, C. M.; JEQUER, A. M.; MEYER, G. T.; MARTIN, G. B. Testicular morphology and androgen profiles following testicular ischaemia in rams. **J. Reprod. Fertil.**, v. 101, p. 643-50, 1994.

MARTINEZ SANZ, C.; GOÑI, I.; TRUCCO BRITO, C. Torsion testicular. **Rev. Chil. Urol.**, v. 52, n. 2, p. 279-81, 1989.

MASTROGIACOMO, I.; ZANCHETTA, P.; GRAZIOTTI, P.; BETTERLE, C., SCRUFARI, P.; LEMBO, A. Immunological and clinical study of patients after spermatic cord torsion. **Andrologia**, v. 14, n. 1, p. 25-30, 1982.

MASTROTI, R. A. Escroto Agudo. In:____. MASTROTI, R. A.; DE CHIARA, N. V. **Clínica Cirúrgica e Urológica em Pediatria. Diagnóstico e conduta.** São Paulo, Robe Editorial, 1997. p. 45-9.

MAXWELL, S.R; LIP, G.Y. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. **Int. J. Cardiol.**, v. 58, n. 2, p. 95 - 117, 1997.

MAZURKIEWICZ, I. Der Einfluss des torquierten Hodens auf den kontralateralen Hoden nach experimenteller Hodentorsion bei Ratten. **Z Kinderchir**, v. 41, n. 6, p. 350-4, 1986.

MCCORD, J. M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. **N. Engl. J. Med.**, v. 312, n. 3, p. 159-63, 1985.

MELIKOGLU, M.; GUNTEKIN., E.; ERKILI, M.; KARAVELI, S. Contralateral testicular blood flow in unilateral testicular torsion measured by the ¹³³Xe clearance technique. **Br. J. Surg.**, v. 69, n. 6, p. 633-5, 1992.

MERIMSKY, E.; ORNI-WASSERLAUF, R.; YUST, I. Assessment of immunological mechanism in infertility of the rat after experimental testicular torsion. **Urol. Res.**, v. 12, n. 3, p. 179-82, 1984.

MERIMSKY, E.; ROCK, M.; KATZ, S. Assessment of fertility after testicular torsion: an experimental study. **Urol. Res.**, v. 10, n. 1, p. 51-4, 1982.

MIZRAHI, S; SHTAMLER, B. Surgical approach and outcome in torsion of testis. **Urology**, v. 39, n. 1, p. 52-4, 1992.

NAGLER, H.M.; DEITCH, A.D.; deVERE WHITE, R. - Testicular torsion: temporal considerations. **Fertil. Steril.**, v. 42, n. 2, p. 257-262, 1984.

NAGLER, H.M.; deVERE WHITE, R. The effect of testicular torsion on the contralateral testis. **J. Urol.** v. 128, p. 1343-8, 1982.

NESA, S.; LORGE, F.; WESE, F. X.; NIJOU, B.; OPSOMER, R. J.; VAN CANGH, P. J. Testicular torsion after previous orchidopexy for undescended testis. **Acta Urol. Belg.**, v. 66, n. 3, p. 25-6, 1998.

NGUYEN, L.; LIEVANO, G.; GHOSH, L.; RADHAKRISHNAN, J.; FORNELL, L.; JOHN, E. Effect of unilateral testicular torsion on blood flow and histology of contralateral testes. **J. Pediatr. Surg.** v. 34, n. 5, p.. 680-3, 1999.

NISTAL, M.; MARTINEZ, C.; PANIAGUA, R. Primary testicular lesions in the twisted testis. **Fertil. Steril.**, v. 57 n. 2, p. 381-6, 1992.

NOSKE, H. D.; KRAUS, W.S.; ALTINKILIC, B. M.; WEIDNER, W. Historical milestones regarding torsion of the scrotal organs. **J. Urol.**, v. 159, n.1, p. 13-16, 1998.

OLSON, M. E. Bioenergetics and oxidative metabolism. In: DEVLIN. T. M. (Ed.). **Textbook of biochemistry with clinical correlations**. 4th ed. New York: Wiley-Liss, 1997, cap. 6, p. 217-266.

OROZCO SANCHEZ, J.; SAMANO MARTINEZ, A. Torsión del cordón espermático y necrosis testicular en el recién nacido. **Rev. Mex. Pediatr.**, v. 61, n. 2, p.92-5, 1994.

ORTIZ, V.; ARAUJO, E. J. La Torsión del cordón espermático en ratas prepuberales y sus efectos seminales en el testículo contralateral. **Rev. Cir. Infant.**, v. 4, p.202-8, 1998.

ORTIZ, W.; PERRONE, E. L. T.; PERRONE, E. B. Torção do cordão espermático no recém-nascido: relato de 2 casos. **J. Bras. Urol.**, v. 11, n. 1, p. 25-6, 1985.

ORTOLANO, V.; NASRALLAH, P. F. Spermatic vessel ligation (Fowler-Stephens maneuver): experimental results with regard to fertility. **J. Urol.** v. 136 n. (1 Pt 2), p. 211-3, 1986.

OZGÜR, G. K.; PISKIN, B.; SIVRIKAYA, A.; GACAR, N.; ERKUL, S. Effect of testicular torsion on the contralateral testis. **Int. Urol. Nephrol.**, v. 22, n. 5, p. 461-6, 1990.

PALMER, J. S., PLZAK, L. F., CROMIE, W. J. Comparison of blood flow and histological changes in rat models of testicular ischemia. **J. Urol.**, v.158 n. (3 pt 2), p.1138-1140, 1997.

PAN, S. S. **Avaliação tardia da função testicular hormonal basal e dos níveis de anticorpos antiesperma circulantes na torção de testículo unilateral.**: 1998. 36f. Dissertação (Mestrado). Universidade do Estado do Rio de Janeiro / Faculdade de Ciências Médicas / Centro Biomédico, Rio de Janeiro.

PAREDES ESTEBAN, R.M., RAMIREZ CHAMOND, R., CARRACEDO, ANON J., SALAS MOLINA, J., HERVAS RODRIGUEZ, J., GARRIDO PEREZ, J.I., OCANA LOSA, J.M. Torsion testicular experimental: efecto en el testiculo contralateral. **Cir. Pediatr.**, v. 12, n. 4, p. 152-154, 1999.

PASSIA, D.; IBACH, B.; HILSCHER, B. Experimentelle Hodentorsion. Histologische und enzymhistochemische Untersuchungen. **Urologe [A]**, v. 19, n. 5, p.296-302, 1980.

PETRACK, E. M.; HAFEEZ, W. Testicular torsion versus epididymitis: a diagnostic challenge. **Pediatr. Emerg. Care**, v. 8, n. 6, p. 347-50, 1992.

PRIETO, C.; ZUBIETA, R.; CASTILLO, R.; ESCALA, J. M.; RAMIREZ, R. Síndrome Escrotal Agudo. **Rev. de Cir. Infant**, v. 6, n. 2, p. 78-81, 1996.

PRILLAMAN, H. M; TURNER, T. T. Rescue of testicular function after acute experimental torsion. **J.Urol.**, v. 157, n. 1, p. 340-5,1997.

PURI, P.; BARTON, D.; O'DONELL, B. Prepuberal testicular torsion: subsequent fertility. **J. Pediatr. Surg.**, v. 20, n. 6, p. 598-601, 1985.

RABINOWITZ, R. The importance of the cremastérico reflex in acute scrotal swelling in children. **J. Urol.**, v. 132, n. 1, p. 89-90, 1984.

RALITCHKOVA, L.; NANOV, Z.; GOTCHEV, D.; HINEV, A.; LIBALD, T.; WOLNIK, R. Experimental testicular torsion - Early and late morphological and

enzymohistochemical changes. **Z. Exp. Chir. Transplant.** Künstliche Organe, v. 23, n. 3, p. 185, 1990.

REILLY, P.M.; SCHILLER, H.J.; BULKLEY, G.B. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. **Am. J. Surg.**, v. 161, n. 4, p. 488-503, 1991.

RODRIGUES, L. E.; KAPLAN, G. W. An experimental study of methods to produce intrascrotal testicular fixation. **J. Urol.**, v. 139, n. 3, p.467-7, 1988.

RYAN, P. C.; GOREY, T. F.; FITZPATRICK, J. M. Experimental Testicular Torsion: Fixation without Parenchymal Trauma. **Eur.Urol.** v. 14, n. 2, p. 141-44, 1988.

SABA, M.; MORALES, C. R.; De LAMIRANDE, E.; GAGNON, C. Morphological and biochemical changes following acute torsion in prepubertal rats. **J. Urol.**, v. 157, n. 3, p. 1149-54, 1997.

SAITO, O. C.; OLIVEIRA, I. R. S.; CERRI, G. G. Dopplersonografia do escroto. **Radiol. Bras.**, v.29, n. 1, p. 1-14, 1996.

SAKAI, A. T.; SROUGI, M.; SAKAI, Y. I.; MIES, S.; FERREIRA, E. A.; TOLOSA, E. M. C. Fertilidade após torção unilateral do cordão espermático: estudo experimental em ratos. **Acta Cir. Bras.**, v. 7, n. 1, p. 25-7, 1992.

SALMAN, A. B.; KILINC, K.; TANYEL, F. C. Torsion of only spermatic cord in the absence of testis and / or epididymis results in contralateral testicular hypoxia. **Urol. Res.**, v. 25, n. 6, p. 413-415, 1997.

SALMAN, A. B.; MUTLU, S.; ISKIT, A. B.; GUC, M. O. MUTLU, M.; TANYEL, F. C. Hemodynamic monitoring of the contralateral testis during unilateral testicular torsion describes the mechanism of damage. **Eur. Urol.**, v. 33, n. 6, p. 576-80, 1998.

SANJUAN RODRIGUEZ, S.; BLESASANCHEZ, E.; MIROARIAS, A.; MOLINA FERNANDES, M.; BARQUERO FERNANDEZ, A.; CARDESA GARCIA, J. J. Torsion testicular unilateral. Repercusion sobre el testiculo contralateral. **Cir. Pediatr.** v. 2, n. 1, p. 29-33, 1989.

SARICA, K.; KÜPELI, B.; BUDAK, M.; KOSAR, A.; KAVUKÇU, M.; DURAK, I.; GÖGÜS, O. - Influence of experimental spermatic cord torsion on the contralateral testis in rats. Evaluation of tissue free oxygen radical scavenger enzyme levels. **Urol.Int.**, v. 58, n.4, p. 208-212, 1997.

SAUGSTAD, O. D. Hypoxanthine as an indicator of hypoxia: its role in health and disease through free radical production. **Pediatr. Res.**, v. 23, n. 2, p. 143-50, 1988.

SCUDDER *apud* WILLIAMSON, R. C. N. Torsion of the testis and allied conditions. **Br. J. Urol.**, v. 63, p.465-76, 1976.

SKOGLUND, R. W.; McROBERTS, J. W.; RAGDE, H. Torsion of testicular appendages: presentation of 43 new cases and a collective review. **J. Urol.**, v. 104, n. 4, p. 598-600, 1970. (a)

SKOGLUND, R. W.; McROBERTS, J. W.; RAGDE, H. Torsion of the spermatic cord: a review of the literature and an analysis of 70 new cases. **J. Urol.**, v. 104, n. 4, p. 604-607, 1970. (b)

SLEIN *apud* VASCONCELOS, P. R. L. **Hepatic metabolism during sepsis.** 1987, p. 54f. Tese (Doctor of Philosophy) University Oxford, Oxford.

SMITH, G. I. Cellular changes from graded testicular ischemia. **J. Urol.**, v. 127, n. 2, p. 355-62, 1955.

SNYDER, W. JR.; BRAYTON, D.; GREANEY JR, E. M. Torsion of the Testis. In:_____. MUSTARD, W. T.; RAVITCH, M. M.; SNYDER JR, W.; WELCH, K. J.; BENSON, C. D (Eds.). **Pediatric Surgery**. 2. Ed. Chicago: Year Book Medical Publishers Inc, 1962. v. 2, cap.77, p.1287-91.

SOUTO, C. A. V., LEMOS, N., LISBOA, J. F., SOUTO, J. C. S., LEMOS, F. R., LEMOS, R. R. Torção do testículo espermático. Análise de 26 casos atendidos em dois hospitais universitários. **J. B. M.**, v. 77, n. 3, p. 24-28, 1999.

SPARKS, J.P. Torsion of the testis. **Ann R Coll Surg Engl.**, v. 49, n. 2, p. 77-91, 1971.

SPARKS, J. P. Torsion of the testis in adolescent and young adults: some comments on clinical expressions and management. **Clin. Ped.**, v.11, n. 8, p. 484-86, 1972.

STEINBERGER, E.; TJIOE, D. Y. Spermatogenesis in rat testes after experimental ischemia. **Fertil. Steril.**, v. 20, p. 639-649, 1969.

STOLLER, M. L.; KOGAN, B. A.; HRICAK, H. Spermatic cord torsion: diagnostic limitations. **Pediatrics**, v. 76, n. 6, p. 929-33, 1985.

TANDER, B.; SARICA, K.; BASKIN, D.; ABBASÖGLU, L.; SAKIZ, D.; BULUT, M. Division of the genitofemoral nerve and late orchiectomy: effects on the contralateral testis in ipsilateral testicular torsion. **Pediatr. Surg. Int.**, v. 14 n.1-2, p. 14-16, 1998.

TANYEL, F. C.; AYDIN, A.; BANOGLU, E.; ISIMER, A.; BUYUKPAMUKCU, N. Nor-adrenaline and nitrite-nitrate concentration in the contralateral testis during ipsilateral spermatic cord torsion in the presence or absence of a testis and epidymis. **B.J.U.**, v. 83, n. 7, p. 833-6, 1999.

TANYEL, F. C.; BUYUKPAMUKCU, N.; HICSONMEZ, A. Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. **Br. J. Urol.**, v. 63, n. 5, p. 522-4, 1989.

TARHAN, F.; ERBAY, M. E.; ERDOGAN, E.; OZGUL, A.; KUYUMCUOGLU, U. Effects of unilateral testicular torsion on the blood flow of contralateral testis--an experimental study on dogs. **Scand J Urol Nephrol** v. 34, n. 4, p. 229-32, 2000.

TARHAN, F.; YILDIZ, K.; KUYUMCUOGLU, U. An enigma: contralateral effects of experimental unilateral torsion. **Int. Urol. Nephrol.**, v. 28, n. 3, p. 359-66, 1996.

TARTER, T.; H., KOGAN, S. J. Contralateral testicular disease after unilateral testicular injury: current concepts. **Semin. Urol.**, v. 6, n. 2, p. 120-39, 1988.

TAYLOR, M. R. apud DAS, S.; SINGER, A. Controversies of perinatal torsion of the spermatic cord: a review, survey and recommendations. **J. Urol.**, v. 143, n. 2, p. 231-233, 1990.

THOMAS, W. E. G.; COOPER, M. J.; CRANE, G. A.; LEE, G.; WILLIAMSON, R. C. Testicular exocrine malfunction after torsion. **Lancet**, v. 15, n. 2, p. 1357-60, 1984.

TUCCI JUNIOR, S.; BEDUSCHI, M. C. Torção testicular intravaginal em recém-nascido. **J. Pediatr. (Rio de J.)**, v. 72, n. 6, p.419-21, 1996.

TURNER, T. T.; BROWN, K. J. Spermatic cord torsion: loss of spermatogenesis despite return of blood flow. **Biol Reprod** ., v. 49, n. 2, p. 401-7, 1993.

TURNER, T.T. Acute experimental torsion: no effect on the contralateral testis. **J. Androl.**, v.6, n.1, p. 65-72, 1985.

TURNER, T. T. On testicular torsion and epididymal torsion: no effect on the contralateral testis. **J.Urol.**, v. 138, n. 5, p.1285-90, 1987.

TURRENS, J.F.; BECONI, M.; BARILLA, J.; CHAVEZ, U.B.; McCORD, J.M. Mitochondrial generation of oxygen radicals during reoxygenation of ischemic. **Free Radic Res Commun** , v. 12-13, Pt 2, p. 681-9, 1991.

VAN GLABEKE, E.; KHAIROUNI, A.; LARROQUET, M.; AUDRY, G.; GRUNER, M. Les torsions du cordon espermatique de l'enfant. **Prog. Urol.**, v. 8 n. 2, p. 244-8, 1998.

VASCONCELOS, P. R. L. DE. **Hepatic metabolism during sepsis**, 1987p. 54 f. Tese (Doctor of Phylosophy) . University Oxford, Oxford.

VIEIRA, I. A; ROCHA, P. E.; LIMA, C. L. Torção do cordão espermático. **J. Bras. Urol.**, v. 8, n. 3, p. 182-5, 1982.

YORK, J .P.; DRAGO, J. R. Torsion and the contralateral testicle. **J. Urol.**, v.133, n.2, p. 294-297, 1985.

WAGGETT, J. Torsion of Testis. In: Eckstein, H.B., Hohenfellner, R., Williams, D.I. **Surgical Pediatric Urology**. Philadelphia. W.B. Saunders Company, 1977, p. 460-462.

WALLACE, D. M.; GUNTER, P. A.; LANDON, G. V.; PUGH, R. C.; HENDRY, W. F. Sympathetic orchioopathia - an experimental and clinical study. **Br. J. Urol.**, v. 54, n. 6, p. 765-768, 1982.

WATKIN, N. A.; REIGER, N. A.; MOISEY, C. U. Is the conservative management of the acute scrotum justified on clinical grounds? **Br. J. Urol.**, v. 78, n.4, p. 623-627, 1996.

WILLIAMSON, D. H., LUND, P., KREBS, H. A. The redox state of free nicotinamide-adenine dinucleotide in the cytoplasm and mitochondria of rat liver. *Biochem. J.*, v. 103, p. 514-527, 1962.

WILLIAMSON, R. C. Torsion of the testis and allied conditions. **Br. J. Urol.**, v. 63, n.6, p.465-476, 1976.

WORKMAN, L.; KOOGAN, B. A. Old and new aspects of testicular torsion. **Seminars in Urology**, v.6, n.2, p.146-157, 1988.

ZEBALLOS EVANGELISTA, H.; MORALES DONOHUE, A.; MOYANO AVENDAÑO, C.; MORIOKA OKA, C. Torcion testicular. **Rev. Soc. Cir. Peru**, v. 4, n. 2, p. 84-87, 1987.

ANEXO 1

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

1. Soluções reagentes

(REAGEN, Rio de Janeiro – RJ, Brasil)

- Acido clorídrico (HCl)
- TRIS (Hidroximetil) Aminometano ($C_4H_{11}NO_3$)

(VETEC Química Fina Ltda. Rio de Janeiro – RJ, Brasil)

- Hidróxido de Potássio (KOH)

(Haquímica Ind. e Com. Ltda, São Paulo – SP, Brasil)

- Acido perclórico 20% ($HClO_4$)

(Grupo Química Industrial Ltda, Rio de Janeiro – RJ, Brasil)

- Cloreto de Magnésio ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$)

(Merck KGA A, Germany)

- Universal Indicator Solution pH 4-10

2. Enzimas

(Boehringer Mannheim – Germany)

- ATP (trifosfato de adenosina, $C_{10}H_{14}N_5O_{13}P_3Na_2 \cdot 3H_2O$)
- G6P-DH (glicose-6-fosfato desidrogenase de *Leuconostoc mesenteroides*)
- HK (hexoquinase)
- NAD (nicotinamida adenina dinucleotídio, $C_{21}H_{27}N_7O_{14}P_2 \cdot 3H_2O$)
- NADH (nicotinamida adenina dinucleotídio, $C_{21}H_{27}N_7O_{14}P_2Na_2$)

Aparelhagem utilizada

- Balança de precisão Mettler Toledo, modelo AB204-S (Micronal S.A. São Paulo, Brasil)
- Centrífuga Excelsa Baby I, modelo 206 (Fanem, São Paulo – Brasil)
- Espectrofotômetro (Modelo DU, Beckman, Fullerton, Ca, USA) com medidor de absorvância digital e outros acessórios (Modernization System, Gilford, Oberlin, Ohio, USA)
- Medidor de pH micronal (pH – metro B374)

Diversos

- Iodopovidona - Povidine ®. (Ceras Johnson, Rio de Janeiro, RJ).
- Éter dietílico P.A.- $(C_2H_5)_2O$ - (VETEC Química Fina Ltda, Rio de Janeiro – RJ)
- Material cirúrgico: bisturi, tesouras, pinças, fios de sutura (seda 4-0)
- Cubetas para leitura ultravioleta (Ultra-VU disposable cuvettes - American Hospital Supply Corporation – USA)
- Pipeta Gilson graduada 1.000 mc (França)
- Becher de 10, 50 e 100 ml (Pyrex)
- Tubos de ensaio de vidro de 10 ml
- Seringas de 3 ml e agulhas 25/7
- Nitrogênio líquido (White Martins, São Paulo – SP, Brasil)
- Garrafa térmica de 2 litros para acomodar nitrogênio líquido durante o experimento
- Grau e pistilo de porcelana
- Papel Indicador de pH 1-12 (Copar Indústria e Comércio Ltda , Rio de Janeiro – RJ)

ANEXO 2

FONTES CONSULTADAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14724**: Informação e documentação – Trabalhos acadêmicos - Apresentação. Rio de Janeiro, jul 2001, 6p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10530**: Informação e documentação - Apresentação de Citações em Documentos. Rio de Janeiro, ago 2001, 22p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, ago 2000, 22p.

BRASIL. - **Lei Federal n. 6.638, de 8 de maio de 1979. Estabelece normas para a prática didático-científica da viviseção de animais e determina outras providências.** In: Brasil. **Coleção de leis de 1979: atos legislativos do poder executivo. Leis de abril a junho.** Brasília, Departamento de Imprensa Nacional, 1979. 101p. v. 3, p 33-4.

CONSEJO DE ORGANIZACIONES INTERNACIONALES DE CIENCIAS MÉDICAS.
Normas internacionales para la investigación biomédica con animales.
Bol. Oficina Sanit. Panam., v. 108, p. 637-41, 1990.



**Defesa de Dissertação de Mestrado
Univ. Federal do Ceará (2002)**

Banca Examinadora

**Prof. Dr. Luiz Alberto de Mendonça Lima (UnB)
Prof. Lusmar Veras Rodrigues (UFC)
Prof. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos (UFC)
Orientador**

Dissertação de Mestrado

**Estudo experimental das alterações agudas
na glicemia e concentrações testiculares de
ATP e glicose induzidas por torção
unilateral, *in vivo***